

...ilton Jardim Adriano
NICA E HISTOLÓGICA DA FORMAÇÃO
A ENXERTADA COM BLOCO DE OSSO
CRISTA ILÍACA E OSSO ALÓGENO FRESCO



B0122619

617.69 Q53a 2007 ex.1

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMPLANTODONTIA

Maurício Rebelo Moreira Querido

AValiação CLÍNICA E HISTOLÓGICA DA FORMAÇÃO
ÓSSEA NA ÁREA ENXERTADA COM BLOCO DE OSSO
ALÓGENO DE CRISTA ILÍACA E OSSO ALÓGENO FRESCO
CONGELADO EM COELHOS

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo X. S. Ribeiro da Silva

São Paulo

2007

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMPLANTODONTIA

Maurício Rebello Moreira Querido

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E HISTOLÓGICA DA FORMAÇÃO
ÓSSEA NA ÁREA ENXERTADA COM BLOCO DE OSSO
AUTÓGENO DE CRISTA ILÍACA E OSSO ALÓGENO FRESCO
CONGELADO EM COELHOS**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo X. S. Ribeiro da Silva

São Paulo
2007

MAURICIO REBELLO MOREIRA QUERIDO

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E HISTOLÓGICA DA FORMAÇÃO
ÓSSEA NA ÁREA ENXERTADA COM BLOCO DE OSSO
AUTÓGENO DE CRISTA ILÍACA E OSSO ALÓGENO FRESCO
CONGELADO EM COELHOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro, como parte dos Requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Implantodontia, sob orientação do Prof. Dr. Carlos Eduardo X. S. Ribeiro da Silva

**São Paulo
2007**

B. B0120.619
Class. UG17.69
Cutter Q53a
Patri nº 3860
Tipo entrada DOA(A)
Nota Fiscal
Data rec. 23/10/08
Preço
Origem M. Rebelo Moreira
Univ. Estadual Paulista

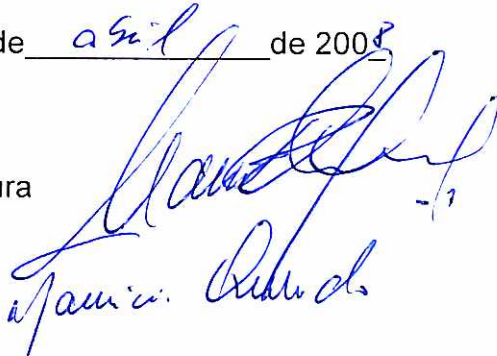
Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca Dr. Milton Soldani Afonso – Campus I

Q53a Querido, Maurício Rebelo Moreira
Avaliação histológica da formação óssea na área enxertada com bloco de osso autógeno de crista ilíaca e osso alógeno fresco congelado em coelhos / Maurício Rebelo Moreira Querido. Orientação do Prof. Dr. Carlos Eduardo Xavier Santos Ribeiro da Silva. – São Paulo : 2007.
79p.
Dissertação (Mestrado). Área de Concentração em Implantodontia. Universidade de Santo Amaro.
1. Transplante ósseo 2. Enxerto alógeno 3. Crista ilíaca I. Título II. Orientador

Autorizo a impressão parcial ou total do meu trabalho acadêmico para fins de divulgação científica.

São Paulo, 10 de agosto de 2008

Nome e Assinatura


Maurício Rebelo Moreira

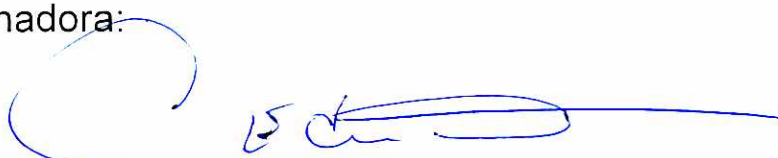
MAURÍCIO REBELLO MOREIRA QUERIDO

Título: Avaliação histológica da formação óssea na área enxertada com bloco de osso autógeno de crista ilíaca e osso alógeno fresco congelado em coelhos.

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em implantodontia, sob a orientação do Prof. Dr. Carlos Eduardo X. S. Ribeiro da Silva

Aprovado em: ____/____/____

Banca examinadora:



Prof. Dr. Carlos Eduardo X. S. Ribeiro da Silva



Profa. Dra. Andrea Ashcar Cury



Prof. Dr. Fábio de Abreu Alves

Dedicatória

Agradeço a **Deus** por ter me concedido a vida, por ter escolhido uma família tão bela quanto a minha. Por ter me dado forças, ensinamentos e condições de continuar este trabalho.

Aos meus pais, **Alberico e Célia Querido** pela dedicação, compreensão, apoio, incentivo, torcida, proteção, zelo, orações e pela educação e orientação me oferecidas. Principalmente por todo amor e carinho incondicional que me deram a vida toda, visando a minha formação e minha felicidade.

Aos meus irmãos **Fernando e Fábio Querido** que estiveram sempre ao meu lado compreendendo minhas ausências, minhas preocupações, me apoiando e torcendo pelo meu sucesso e minha felicidade.

A minha irmã **Adriana Querido**, meu cunhado **Alfredo Borrelli** e meus queridos sobrinhos **Felipe e Guilherme Borrelli** por todo carinho e apoio dispensado.

A minha querida avó **Anna del Mônaco** que sempre zelou pela minha educação com tanto carinho e amor, compreendendo tanto a minha ausência durante esses dois anos, o meu profundo
agradecimento.

Agradecimentos

Ao meu orientador **Prof. Dr. Carlos Eduardo X. S. Ribeiro da Silva**, meu amigo de longa data, pessoa iluminada, companheira, parceira, que soube contribuir imensamente para o desenvolvimento deste projeto, meu grande respeito, admiração e gratidão.

Ao **Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk**, pessoa iluminada pessoalmente e profissionalmente. Grande companheiro, principalmente amigo, que proporcionou grande parte do meu conhecimento, nesta especialidade, desde a minha graduação. Pela admiração que tenho e me fez mais forte para seguir seus passos. Minha especial admiração.

Ao Professor e amigo **Samy Tunchel**, uma pessoa especial que, sempre solícito e paciente, esteve presente nos momentos que mais precisei, pessoalmente e profissionalmente. Agradável companhia em todos os momentos.

Aos meus colegas **Karla Furtado, Angélica Pimentel, Myrna Paula, Mariana Bisi, Ana Luiza, Odair Borghi, Wander Kobayashi, João Zucchini, Jonie Yamazaki, Ricardo Tanaka, Marcelo Gallo, Ricardo Fortes**, mais que colegas de curso, posso dizer que formamos uma equipe. O meu respeito, admiração e agradecimento pelos momentos que passamos juntos onde pude aprender muito com todos vocês.

À todo o **corpo docente** do curso, obrigado pelos ensinamentos transmitidos.

A empresa Conexão Sistemas de Implante, meu amigo **Rodolfo Cândia Alba Júnior**, pelo apoio imediato as minhas solicitações na pesquisa, o meu mais profundo agradecimento.

A secretária do curso de Pós-Graduação do mestrado em Implantodontia, **Srta. Juliana Selma de Oliveira**, pelo carinho, dedicação e apoio, o que facilitou na organização do excelente curso que tivemos, o meu agradecimento e respeito.

A equipe da veterinária, **Dra. Andréa Barbosa, Srta. Natássia Cominato e toda equipe**, pela ajuda, atenção e cuidados dispensados aos coelhos durante a pesquisa, meu respeito admiração e agradecimento.

A minha querida amiga e quase irmã **Profa. Dra. Andréa Cury** pelo companheirismo, carinho, torcida, apoio, ajuda, compreensão, conselhos importantes, pela possibilidade de conviver com você durante tantos anos e principalmente por servir de exemplo de pessoa pra mim, meu muito obrigado

Minha querida amiga **CD Andréa Maselli** pelo companheirismo, colaboração, amizade, pelo carinho de sempre e pelo prazer de conviver com você durante tantos anos, muito obrigado

A **Profa. Dra. Olga Maria Toledo**, minha mentora na histologia, meu especial agradecimento pelo empenho durante todos esses meses ajudando em tudo o que foi necessário, doando seu conhecimento e experiência engrandecendo ainda mais a pesquisa. À **Profa. Dra. Mônica Pinheiro** por toda ajuda em todos os momentos desde que eu tive a sorte e o prazer de conhecer, muito obrigado. E à toda equipe, **Srta. Juliana Mora, Sr. Adriano Mora, Sr. Márcio Alves Moura**, meu especial agradecimento.

Ao meu amigo e colega de profissão **Jacques Alain Roulet**, pelos conselhos profissionais e pessoais e pelo agradável convívio durante anos importantes da minha vida

Aos meus amigos e colegas **Prof. Fábio Bastos e Prof. Alberto Fernandes** pelo incentivo e por entender a minha ausência em vários momentos durante os cursos, meu agradecimento

A minha equipe **CD. Luiz Eduardo Ricciarelli, Srta. Nádia Abatayguara, Sra. Rita Custódio e Sra. Juraci Lourenço** pela dedicação que tiveram em cuidar de tudo o que podiam na minha ausência, me ajudando das mais variadas formas. O meu respeito e agradecimento.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para que eu realizasse este trabalho, meus sinceros agradecimentos

***“Investir em conhecimento
rende sempre os melhores juros”***

Benjamin Franklin

RESUMO

O objetivo deste trabalho é avaliar a formação óssea através da atividade celular que ocorre na área de junção entre os enxertos autógeno e alógeno fresco congelado em coelhos e o leito receptor, e a reabsorção óssea durante o período de reparação. Foram selecionados 18 coelhos da raça New Zealand, sendo que destes, 3 foram doadores do osso do fêmur para preparo do enxerto alógeno fresco congelado e os outros 15 foram divididos em 3 grupos, sendo o grupo I, os animais que permaneceram com os enxertos por 4 semanas; grupo II, que permaneceram com os enxertos por 8 semanas; grupo III que permaneceram com os enxertos por 12 semanas. Cada coelho foi seu próprio doador do enxerto de íliaco, que foi fixado na base da mandíbula esquerda, e o enxerto alógeno fresco congelado na base da mandíbula direita. Neste momento todos os blocos foram medidos com auxílio de uma sonda periodontal no seu comprimento e largura. Após o período de cada grupo, os animais foram sacrificados e realizada a coleta dos materiais. Todos os blocos foram mensurados no momento da remoção. Os materiais foram enviados para descalcificação e preparo das lâminas. Através da histologia, foram avaliadas a atividade celular e a união dos enxertos com o leito receptor. Macroscopicamente foi avaliada a quantidade de reabsorção do enxerto no período de reparação. Os resultados obtidos mostram que o enxerto autógeno proporcionou maior quantidade de osteoblastos quando comparado com o enxerto alógeno e os enxertos alógenos tiveram menor reabsorção macroscópica quando comparado com os enxertos autógenos.

Palavras-Chave: Transplante ósseo, Enxerto alógeno; enxerto autógeno; crista íliaca

ABSTRACT

The aim of this work is to evaluate the bone formation through the cellular activity that occurs in the junction area between the autogenous and the allogeneous frozen fresh graft in rabbits and the receiving stream bed, and also the bone resorption during the time of bone repairing. Eighteen rabbits of the New Zealand breed were selected, with three of them were donors of the femur bone in order to prepare the allogeneous frozen fresh graft, and the last fifteen were divided in three groups. The group I, the animals remained with the grafts for four weeks; the group II remained with the grafts for eight weeks; the group III remained with the grafts for twelve weeks. Each rabbit was its own donor of the iliac graft, that was fixed on the left mandible base. The allogeneous frozen fresh graft was fixed on the right mandible base. At this moment, all the grafts were measured with a periodontal probe on its length and width. After the period of each group, the animals were sacrificed and the materials collected. All the grafts were measured at the time of the removal. The materials were sent to the decalcification process in order to prepare the macroscopic slides. Through the histology, the cellular activity and the bonding graft at the receptor site were evaluated. The quantity of graft resorption was macroscopic evaluated during the repairing period. The obtained results showed that the autogenous graft provided a great amount of osteoblasts when compared with the allogeneous grafts had low macroscopic resorption, when compared with the autogenous grafts.

Key-words : Bone transplant, Allogeneous graft, Autogenous graft, iliac crest

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagem da tricotomia da região do íliaco.....	42
Figura 2: Imagem do íliaco (ílio) e o bloco osteotomizado.....	43
Figura 3: Área receptora do corpo mandíbula direita pronta para receber o enxerto alógeno.....	44
Figura 4: Imagem do bloco de osso alógeno sendo enxertado na base da mandíbula direita.....	45
Figura 5: Após sedação, injeção de fármacos no coração do coelho: Eutanásia.....	47
Figura 6: Imagem da mandíbula com o enxerto autógeno incorporado no momento de sua remoção.....	48
Figura 7: Imagem em detalhe da osteotomia contendo parte da mandíbula e o enxerto (autógeno) incorporado.....	49
Figura 8: Fotografia dos enxertos: autógenos (AU) e alógeno (AL) de um animal após 1 mês de cirurgia.....	52
Figura 9: Fotomicrografia de enxerto autógeno corado pela Hematoxilina-Eosina de animal do Grupo I mostrando atividade osteoclástica (seta preta) e atividade osteoblástica (seta azul). Magnificação original 200X	53
Figura 10: Fotomicrografia do enxerto mostrando os osteoblastos cubóides com seu volume aumentado (seta) indicando intensa atividade de síntese. Notar também adjacente a estes osteoblastos, uma região corada mais fracamente. Essa região representa a matriz óssea recém-formada, o osteóide. Magnificação original 400X	54
Figura 11: Imagem histológica em HE de enxerto alógeno de coelho do Grupo I. Magnificação original 200X	55

Figura 12: Imagem histológica mostrando centros de ossificação em formação (asteriscos). Esses centros representam neoformação óssea. Magnificação original 400X	55
Figura 13: Fotomicrografia mostrando à direita o enxerto autógeno e à esquerda, a mandíbula de um coelho do Grupo I. As setas indicam a área de junção do enxerto com a mandíbula. Magnificação original 200X	56
Figura 14: Fotomicrografia do enxerto alógeno (à direita) na área de junção (setas vermelhas) com a mandíbula (à esquerda) em um coelho do grupo I. Sistemas de Havers (setas pretas).....	56
Figura 15: Fotomicrografia da imagem do enxerto alógeno (à direita) na área de junção com a mandíbula (à esquerda) de um coelho do grupo II. Sistemas de Havers (setas). Magnificação original 400x	57
Figura 16: Fotomicrografia da imagem do enxerto autógeno (à direita), na área de junção (setas vermelhas) com a mandíbula (à esquerda) de um coelho do grupo II. Magnificação original 400x	58
Figura 17: Fotografia dos enxertos: autógenos (AU) e alógeno (AL) de um animal após 3 meses da cirurgia – Grupo III.....	59
Figura 18: Fotomicrografia do enxerto alógeno (à direita) na área de junção (setas vermelhas) com a mandíbula (à esquerda) num animal do Grupo III. Magnificação original 400x	60
Figura 19: Fotomicrografia do enxerto autógeno (à direita) na área de junção (setas vermelhas) com a mandíbula (à esquerda) num animal do Grupo III. Magnificação original 400x	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Porcentagens médias de reabsorção nos diferentes grupos dos enxertos.....61

Gráfico 1: Diferença da reabsorção e desvio padrão dos enxertos autógenos (AUTO) e alógenos (ALO) nos três grupos; 4, 8 e 12 semanas.....61

SUMÁRIO

RESUMO	I
ABSTRACT	II
LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE TABELAS	V
1 INTRODUÇÃO	1
2 PROPOSIÇÃO.....	4
3 REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1 Histofisiologia do Tecido Ósseo	5
3.2 Biologia dos Enxertos Ósseos Autógenos	12
3.3 Enxertos Ósseos Alógenos Congelados	17
4 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 Material	36
4.1.1 Material Permanente	36
4.1.2 Material de Consumo	36
4.1.3 Drogas Utilizadas	37
4.2 MÉTODOS	38
4.2.1 ANIMAIS	38
a) Coelhos doadores	39
b) Coelhos da pesquisa	40
4.2.2 Anestesia e Preparo dos Animais	40
4.2.3 Procedimento Cirúrgico	42
4.2.4 Controle Pós-Operatório	46
4.2.5 Eutanásia	46
4.2.6 Remoção das Amostras	47
4.2.7 Processamento do Material para Análise Histológica.....	49
4.2.8 Análise Estatística	51

5 RESULTADOS	52
5.1 Análise Macroscópica e Histológica dos Enxertos Alógenos e Autógenos	52
5.1.1.A. Análise Macroscópica dos Enxertos após 4 Semanas da Cirurgia – GR.....	52
5.1.1.B. Análise Histológica	53
5.1.2.A. Análise Macroscópica dos Enxertos após 8 Semanas da Cirurgia - Grupo II	57
5.1.2.B. Análise Histológica	57
5.1.3.A. Análise Macroscópica dos Enxertos após 12 Semanas da Cirurgia - Grupo III	58
5.1.3.B. Análise Histológica	59
6 DISCUSSÃO	62
7 CONCLUSÕES.....	68
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1. INTRODUÇÃO

Com o advento da implantodontia, criado pelo Dr. Per-Ingvar Brånemark et al. (1969), a comunidade odontológica se viu diante da possibilidade de repor os dentes perdidos. Por meio dos implantes endósseos, preferencialmente dos chamados implantes osseointegráveis, as reabilitações orais sofreram até os dias atuais uma evolução que em poucas áreas da medicina pode-se observar. Numa velocidade semelhante, houve a evolução da técnica, da tecnologia empregada nas pesquisas e nos biomateriais.

Com isso, as indicações para os implantes osseointegráveis foram crescendo, e junto com elas, os casos com necessidade de instalação dos implantes em áreas com pouca quantidade óssea.

Os enxertos autógenos possuem o desconforto de um segundo acesso cirúrgico e no que tange os acessos intra-orais, muitas vezes não fornecem quantidade óssea suficiente e os acessos extra-orais aumentam significativamente a morbidade e o custo do procedimento. Por estes e outros motivos, diversos materiais vem sendo testados com a finalidade de promover reparação dos defeitos preferencialmente às custas de regeneração do tecido perdido. Por esta razão, técnicas para crescimento ósseo foram sendo empregadas e pesquisadas ao longo desses anos. Como exemplo, enxertos ósseos de várias áreas doadoras, enxertos autógenos particulados, enxertos de osso congelado, biomateriais e distração osteogênica.

As áreas para captação dos enxertos autógenos podem ser intra ou extraorais. Intraorais temos a região mentoniana, retromolar e tuberosidades (KHOURY, 1999). Esses enxertos podem ser obtidos sob a forma de particulados, "pastas" (coletores ósseos) ou em blocos. Para se obter em forma de blocos, tipo *Onlay*, as regiões que nos dão esta possibilidade são a região mentoniana e a região retromolar. Os blocos tem como característica uma formação cortico-medular. Os enxertos autógenos intraorais possuem características biológicas excepcionais para enxertia que permite uma menor reabsorção pós operatória (SENDYK et al., 2004)

Vários autores propuseram técnicas de enxertia óssea, objetivando aumentar o volume ósseo com a intenção de instalar implantes. (COLLINS et al., 1995; SUMMERS, 1994; BRANEMARK et al., 1975; BUSER et al., 1996; BLOCK et al., 1996; JENSEN e SHULMAN, 1998; QUERIDO e LI, 2004).

Uma alternativa aos ossos autógenos, tem sido utilizado o enxerto alógeno (osso proveniente de um indivíduo da mesma espécie) fresco e congelado. Por ser mantido congelado, sem desidratação e sem desmineralização, este osso mantém as capacidades de osteocondução e osteoindução. Isto não ocorre quando um osso passa pelo processo de liofilização, reduzindo assim os potenciais osteoindutores em 50% (DZIEDZIC-GOCLAWSKA et al., 1991).

O emprego de osso congelado humano vem sendo utilizado nos últimos anos pela comunidade científica odontológica, como uma alternativa de reconstrução óssea com sucesso clínico (Malloy e Hilibrand, 2002; Inclan, 1942; Tomford, 1983; Pelker et al., 1984; Friedlaender, 1987; Laitinen, Kivikari e Hirn, 2006).

Os métodos alternativos que utilizam osso fresco congelado vêm representar um suprimento adequado, rápido e com menor morbidade em reconstruções maxilo-mandibulares para reabilitações com implantes, em razão do pouco volume ósseo das áreas doadoras autógenas intra-orais e a morbidade pós-operatória conseqüente aos enxertos autógenos extra-orais como a crista do osso ilíaco, por exemplo. Estão disponíveis os bancos de ossos para fornecer tecidos adquiridos de fontes *pós-mortem*, ou de doadores vivos. Com critérios apropriados de seleção do doador e adequadas técnicas de processamento, esses tecidos podem ser considerados eficientes e seguros (FRIEDLAENDER, 1987).

Quanto a transmissão de doenças infecto-contagiosas, há uma preocupação em relação a utilização de um enxerto ósseo alógeno. Diferentemente do sangue, sabe-se que o osso apresenta uma incidência de transmissão de doenças extremamente baixa (BUCK; MALININ; BROWN, 1989). A American Association of Tissue Bank (AATB) criou uma normativa sobre os procedimentos a serem adotados pelos bancos de tecidos. Com isso alcançou um protocolo eficaz, com garantia da qualidade dos tecidos a serem transplantados (AATB, 1992).

Há uma grande dificuldade de se encontrar na literatura odontológica, estudos que avaliem a quantidade e qualidade de ganho ósseo conquistadas em sítios previamente enxertados, tanto com osso autógeno, como com osso alógeno. São poucos os trabalhos na literatura que tratam sobre enxertos ósseos de bancos de osso fresco e congelado, até por sua pouca longevidade de utilização clínica, até o momento.

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho é avaliar clínica e histologicamente a reabsorção e a formação óssea nos enxertos do tipo “onlay” provenientes de osso autógeno de crista ilíaca, comparando-os com osso fresco congelado em coelhos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 HISTOFISIOLOGIA DO TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é o constituinte principal do esqueleto, possuindo importantes funções no organismo, tais como dar sustentação ao corpo, proteção a alguns órgãos, servir de reserva de cálcio para o restante do organismo e proporcionar a hematopoiese. O osso resiste mais à força de compressão do que a de tensão (TENCATE, 2001). Ele é composto basicamente por três tipos de células: osteoblastos, são células uninucleadas que formam a matriz óssea e são produtores da parte orgânica da matriz (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004). Osteócitos, que se situam em cavidades ou lacunas no interior da matriz, e os osteoclastos, que são células gigantes, móveis e multinucleadas que reabsorvem a matriz óssea participando da remodelação. Entre as células existe uma matriz composta predominantemente por parte orgânica de proteínas colágenas do tipo I; algumas proteínas não-colágenas, como as proteínas ósseas morfogenéticas ou BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins*) e uma porção inorgânica composta por cristais de hidroxiapatita. Podemos também definir macroscopicamente, dois tipos básicos de tecido ósseo: o osso cortical ou compacto e o osso trabeculado ou esponjoso. O osso cortical ou compacto corresponde a um tecido mais denso, portanto com menor vascularização que o tecido esponjoso e tem sua vascularização proveniente do sistema nutriente medular e do periósteo sobreposto. O osso esponjoso apresenta-se menos denso, com mais espaços medulares ou lacunas, onde podemos encontrar

células mesenquimais indiferenciadas com potencial hematopoiético e a medula óssea formadora das células do sangue (RHINELANDER, 1972).

O tecido ósseo sofre uma remodelação constante quanto a sua composição, forma e tamanho durante toda a vida do indivíduo. Todo esse processo de mudança inclui algumas fases. A fase inicial ocorre com a estimulação e ativação de algumas células como os osteoclastos, que liberam substâncias (enzimas), que destroem a matriz óssea formando algumas depressões denominadas de lacunas de Howship. A velocidade com que este processo ocorre gira em torno de 120 a 180 μm (micrômetros) por dia num indivíduo adulto. Este processo pode perdurar por duas semanas no ser humano. Após este período ocorre a fase de latência no qual o tecido ósseo permanece inerte. Após isso, ocorre um processo de degradação dos osteoclastos que são substituídos pelos osteoblastos. É neste momento que dá início a formação da matriz óssea (ROBERTS et al., 1987).

Goldberg e Stevenson (1987), avaliaram as fases de reparação entre enxerto autógeno comparando com enxerto alógeno, avaliando cinco fases de cada enxerto. Primeira fase: ocorre a inflamação aguda, quando as células chegam durante as primeiras semanas. Segunda fase: ocorre a vascularização, quando as células provenientes do leito receptor, junto com nutrientes chegam ao local do enxerto. Terceira fase: ocorre o processo de indução, onde há formação de matriz óssea através da diferenciação das células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos. Quarta fase: ocorre a osteocondução, onde o enxerto servindo como arcabouço, permite a invasão de células em seu interior. Este processo, segundo os autores, pode levar alguns anos para se completar. Quinta fase: ocorre a remodelação do

enxerto ósseo. Os autores observaram que os enxertos alógenos sofrem um atraso na fase de osteoindução por não terem as BMPs que estimulam a diferenciação celular, podendo haver reação imunológica no local. Os autores ressaltam ainda que dependendo do processo de armazenamento dos enxertos alógenos, podem ainda conter pequena quantidade de BMPs, comparando-se com os enxertos autógenos.

Marx (1994), observou que dependendo de sua origem e composição os enxertos funcionam por mecanismos diferentes. Nos enxertos autógenos ocorrem a osteogênese, osteoindução e osteocondução. Já nos enxertos alógenos, corticais ou esponjosos, possuem propriedades osteocondutoras e possivelmente osteoindutoras e não são osteogênicos. Os enxertos aloplásticos são tipicamente osteocondutores.

Michaud e Drabu (1994), relataram que várias pesquisas têm mostrado a eficácia e a aplicação dos enxertos alógenos e que 30% de todas as artroplastias totais de quadril eletivas realizadas em hospitais britânicos, necessitaram de substituição do osso autógeno por substancial quantidade de enxerto alógeno.

Brazaitis et al. (1994) relataram um caso clínico de complicação onde o paciente sofreu hemorragia retroperitoneal severa levando-o a morte. O incidente ocorreu após a cirurgia na região da crista ilíaca anterior, que seria a área doadora do enxerto. Os autores concluíram que a utilização da crista ilíaca como área doadora podem ocorrer: dor, infecções, hematomas, podendo inclusive ocorrer casos mais raros como fratura, neuropatias e parestesias.

Marx e Garg (1998) relataram em seu trabalho que próximo de 0,7% do esqueleto humano é reabsorvido diariamente e repostado por um novo osso saudável. Este processo é chamado de *turnover* (remodelação) e ocorre por inteiro aproximadamente a cada 142 dias. Com a idade avançada e algumas doenças metabólicas, o processo normal de *turnover* pode ser reduzido. Resultando então um acréscimo na média de idade do osso presente. Os autores relatam que essa alteração pode afetar a instalação e integração dos implantes.

Avaliaram três diferentes processos associados aos enxertos ósseos: Osteogênese, osteoindução e osteocondução. A osteogênese define-se pela formação e desenvolvimento do tecido ósseo, na qual este tecido foi caracterizado. As células osteogênicas estimulam a formação de um novo osso. A osteoindução foi definida como um ato de estimular a osteogênese, onde as células mesenquimais diferenciam-se em osteoblastos e formam novo osso. Os enxertos osteoindutores podem ser usados para promover e aprimorar a regeneração óssea. O osso pode apenas crescer, ou até mesmo se estender para uma nova área. A osteocondução necessita de uma matriz física ou de uma estrutura adequada para a deposição de novo osso pelo seu interior. Todos os materiais de enxerto ósseo possuem pelo menos um dos três mecanismos de ação. Os três principais tipos de enxertos são: autógeno, alógeno e aloplástico. O mecanismo de como esses materiais funcionam dependem basicamente da sua origem e composição. O osso autógeno desenvolve os três processos na formação de um novo osso. Os enxertos alógenos possuem propriedades osteocondutoras e potencial sugestivo para osteoindução, e não são osteogênicos. Os enxertos aloplásticos podem ser

compostos de materiais naturais ou sintéticos e são basicamente osteocondutores.

Cornell e Lane (1998), compararam a reparação do osso medular com o osso cortical. Demonstraram que no osso cortical, existe uma fase de reabsorção para abertura de porosidades (as lacunas de Howship) que irão permitir a invasão de vasos e de células. Nos ossos corticais, a formação óssea ocorreu de forma mais lenta que nos enxertos medulares. Concluíram que o processo de osteocondução foi extremamente importante para a formação óssea.

Stevenson, Einhorn e Lane (1998) avaliaram os conceitos de enxertia óssea frente a um processo de fratura. Avaliaram as propriedades de osteoindução que caracteriza a capacidade de estimular a proliferação e diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas dos tecidos vizinhos e estimulação da formação óssea. Segundo os autores osteocondução é a capacidade do enxerto permitir a invasão de vasos e células durante o processo de reparação. Os autores citam que os enxertos autógenos possuem rápida vascularização e incorporação devido a presença de células osteoprogenitoras e fatores de crescimento no seu interior. Os enxertos alógenos não possuem estas células osteoprogenitoras e nem os componentes protéicos que foram perdidos durante seu processamento. Portanto, sendo um enxerto osteocondutor apresentando lenta reparação e incorporação. Concluíram ainda, que o processo de incorporação dos enxertos alógenos não apresentam fase de reabsorção, não perdendo assim sua resistência mecânica no período de reparação. Relatam que um enxerto

pode falhar se apresentar falta de vascularização, deficiência de estabilidade e de resistência durante a fase de reparação.

Whitson (2001), relata que o tecido ósseo consiste em um tecido conjuntivo especializado, por apresentar uma matriz intercelular mineralizada. Os osteoblastos são derivados de células mesenquimais multipotentes e são geralmente diferenciados de uma célula precursora, que é o pré-osteoblasto. Os osteócitos representam os osteoblastos que ficaram aprisionados em lacunas após secreção da matriz óssea e, por uma razão, perderam gradualmente parte de sua capacidade formadora de matriz e se tornaram reduzidos em tamanho. Os osteócitos comunicam-se uns com os outros, e também com os osteoblastos na superfície do osso, através de projeções citoplasmáticas. O número de osteoblastos que se transformam em osteócitos varia de acordo com a velocidade da formação do osso: quanto mais rápida a formação, mais osteócitos existirão por unidade de volume. Uma falha nesse sistema de comunicação resulta na morte do osso. Os osteoclastos são células multinucleares e sua precursora é uma célula muito maior. Tem um papel importante, são responsáveis pela reabsorção do tecido ósseo. Geralmente, as células formadoras de osso originam-se de células mesenquimais (células-tronco do estroma), e os osteoclastos originam-se de células hematopoiéticas (células-tronco hematopoiéticas).

O tecido ósseo tem uma grande capacidade de reparação frente a uma agressão. Segundo Garg (1999), a formação de um novo osso pode ocorrer a partir de três estágios: a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução. A osteogênese acontece quando existe uma quantidade suficiente de células (osteoblastos) viáveis com capacidade de formar osso.

A osteoindução representa a capacidade de estimular a atividade osteoblástica do tecido ósseo remanescente, com subsequente neoformação óssea, mediante a transformação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos. A osteocondução é a propriedade de conduzir o crescimento ósseo a partir do leito ósseo receptor.

O tecido ósseo é revestido interna e externamente por membranas conjuntivas intensamente vascularizadas e ricas em células osteoprogenitoras. São chamadas de endóstio e perióstio respectivamente. Os ossos maduros, compactos ou trabeculados são constituídos de camadas ou lamelas microscópicas densamente arranjadas no osso compacto. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004)

Sob o ponto de vista histológico, o tecido ósseo pode ser classificado em primário ou imaturo e secundário ou lamelar. Ambos são idênticos histologicamente, pois possuem as mesmas células e os mesmos constituintes da matriz extra-celular. No tecido ósseo imaturo, as fibras colágenas estão dispostas irregularmente. Sem orientação definida, possuem um menor conteúdo mineral e maior quantidade de osteócitos incluídos. Já no tecido ósseo lamelar, as fibras colágenas se dispõem em camadas concêntricas em torno dos vasos sanguíneos formando os sistemas de Harvers ou em lamelas que adquirem uma porção paralela umas das outras (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

De acordo com Gray e Elves (1982), existem evidências suportando uma teoria de duas fases da osteogênese. De acordo com essa teoria, durante as primeiras semanas após a implantação heterotópica de um enxerto ósseo autógeno fresco, a principal contribuição para a osteogênese

são as células do próprio enxerto, aonde após quatro ou cinco semanas, células derivadas do próprio osso contribuem significativamente para a formação de osso novo. Sendo 60% do endóstio e 30% do perióstio responsáveis por esta formação.

3.2 BIOLOGIA DOS ENXERTOS ÓSSEOS AUTÓGENOS

Diferentes formas de reabilitação dos defeitos causados no complexo maxilo-mandibular, seja por tumores ou traumas, foram apresentados por Brånemark et al. (1975). Utilizando placas de osteossíntese feitas de titânio, reabilitaram 31 pacientes num período de sete anos. Utilizaram no estudo, enxertos autógenos de tíbia e crista ilíaca. Dividiu grupos de pacientes, sendo 20 com diagnóstico de câncer bucal, 6 com diagnóstico de tumor benigno e 5 com defeitos ósseos causados por traumas. Os autores concluíram que os enxertos utilizados não foram satisfatórios, devido a baixa densidade e resistência mecânica. Perceberam também que os enxertos córtico-medulares tiveram melhor resposta em comparação com os enxertos medulares.

Segundo Burchardt e Enneking (1978), a cicatrização óssea pode variar entre os tipos de enxertos autógenos corticais ou esponjosos. Diferente dos enxertos corticais, os enxertos esponjosos são mais rapidamente e completamente revascularizados; enquanto os enxertos corticais sofrem um processo de remodelação reverso de substituição. Essa substituição do osso esponjoso envolve primeiro uma fase de formação óssea e depois uma fase

de reabsorção e tendem a ser reparados completamente com o tempo. Os enxertos corticais permanecem com porções de osso necrótico e porções de osso viável. A resistência mecânica do enxerto esponjoso e cortical pode ser correlacionada com seu respectivo processo de regeneração: enxerto esponjoso tende a ser primeiramente fortalecido, enquanto que o cortical é enfraquecido. Com o tempo os dois tipos de enxerto retornam à resistência mecânica normal.

Os enxertos autógenos podem ser de origem intra-orais ou extra-orais. Nas áreas intra-orais, a região de sínfise mentoniana é a mais procurada, pela grande quantidade de tecido medular, contendo células mesenquimais indiferenciadas que são favoráveis à vascularização. Já nas áreas extra-orais, os sítios comumente utilizados são a crista ilíaca anterior e a tibia, por apresentarem grandes quantidades de células osteocompetentes (células indiferenciadas – presentes na medula óssea) e osteoblastos para formação da matriz óssea (GRAY; ELVES, 1982; MELCHER, 1971).

Ao estudarem a biologia do enxerto ósseo cortical, Goldberg e Stevenson (1987) relataram que o índice de revascularização da cortical autógena é significativamente menor do que a esponjosa. Somente após o 6^a dia, o enxerto cortical será penetrado por vasos sanguíneos e dependendo da medida do enxerto, a completa revascularização pode não ocorrer em até dois meses. O que colabora para o atraso da revascularização do osso cortical é a sua densa estrutura. Após a ação osteoclástica de reabsorção na periferia, se dá a penetração vascular e ocorre a formação dos canais Harvesianos. A incorporação e o reparo do osso cortical, em contraste ao esponjoso, ocorrem inicialmente em uma atividade osteoclástica maior do

que osteoblástica. Em duas semanas se dá uma larga reabsorção do osso cortical que aumenta até a sexta semana e depois diminui gradualmente para um nível quase normal antes de completar um ano. Entre a sexta semana até seis meses do transplante, a reabsorção do enxerto cortical resulta numa estrutura mecanicamente frágil. A aposição de novo osso inicia-se antes da terceira semana e segue vagarosamente. Em enxertos corticais autógenos, 40% do osso original permanecem necróticos, o que não acontece com os enxertos autógenos esponjosos.

Breine e Brånemark (1980), utilizaram enxerto autógeno de tibia, junto com a instalação de implantes, para tratamento de rebordos alveolares reabsorvidos em pacientes desdentados. A finalidade dos implantes era para distribuir as forças de mastigação e ao mesmo tempo permitir uma proteção aos enxertos. Trataram 18 pacientes utilizando implantes com comprimentos variáveis entre 7 e 10mm. Somente 25% dos implantes instalados inicialmente permaneceram integrados. Novos implantes foram instalados e apresentaram uma taxa de sucesso de 75%. Concluíram que os enxertos recebidos permitiram a instalação de novos outros implantes e os que permaneceram integrados inicialmente protegeram os enxertos da reabsorção.

Existem disponíveis na atualidade diferentes tipos de materiais para enxertia óssea: autógenos (o indivíduo é seu próprio doador), alógenos (provenientes de indivíduos diferentes e da mesma espécie), xenógenos (indivíduos de espécies diferentes) e aloplásticos (materiais sintéticos ou naturais). Normalmente a origem e a composição dos enxertos, definem como esses materiais funcionam. O enxerto autógeno é o único enxerto que

utiliza a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução para formação de um novo osso. Os enxertos alógenos que são obtidos de cadáveres, são processados em condições estéreis e estocados em banco de ossos. Esses enxertos podem ser corticais ou esponjosos, possuem propriedades osteocondutoras e possivelmente osteoindutoras, porém, não são osteogênicos. As formas utilizadas são o seco congelado, o seco congelado desmineralizado, o fresco congelado e os frescos. Todos os enxertos aloplásticos são definidos como enxertos osteocondutores (MARX, 1994).

Quando um enxerto ósseo autógeno é instalado, inicia-se uma série de fenômenos fisiológicos, com a finalidade de reparação e incorporação do tecido. No primeiro momento o enxerto encontra-se hipóxico e somente após o terceiro dia existem novos capilares circundando o enxerto. Após dez a quatorze dias, o enxerto estará vascularizado. Com o gradiente de oxigênio normalizado, inicia-se a secreção de fatores de crescimento angiogênicos que irão estimular o aparecimento do fator de crescimento transformador beta (TGF- β) que favorece a deposição de matriz osteóide. Paralelamente, células mesenquimais indiferenciadas e osteoblastos provenientes do endóstio do enxerto também secretam pequena quantidade de matriz osteóide. Os osteócitos provenientes do enxerto morrem. Após um período de quatro a seis semanas, o enxerto estará praticamente todo consolidado, mas ainda se apresentando como um tecido desorganizado e imaturo (tecido ósseo primário). Somente após esse processo, ocorrerá uma remodelação dos feixes de fibras colágenas em sistemas entrelaçados (sistemas de Havers) e pela mineralização, o qual irá colaborar para o aumento da resistência mecânica. Os osteoclastos presentes nesta fase degradam a matriz osteóide,

estimulando a liberação de BMPs, que por sua vez, irá estimular a formação do tecido ósseo. Este último processo corresponde ao ciclo de reabsorção e formação do osso (MARX e GARG, 1998).

Vários autores têm relatado uma manutenção de volume nos enxertos de origem membranosa maior se comparando aos de origem endocondral nos enxertos do tipo *onlay* (apositionais). Como não havia sido evidenciado cientificamente, Ozaki e Buchman (1998) propuseram-se a estudar os níveis de reabsorção dos enxertos corticais, de origem membranosa e de origem endocondral, usando a calvária de coelhos; e dos enxertos esponjosos, somente de origem endocondral. A análise de volume mostrou que o osso esponjoso de origem endocondral teve um nível de reabsorção estatisticamente superior comparado-se com ossos corticais, tanto os endocondrais como os membranosos. Nos ossos corticais de origem membranosa e endocondral não tiveram diferença significativa nos níveis de reabsorção. Portanto, segundo os autores, os estudos prévios que mostraram resultados superiores dos enxertos membranosos sobre os endocondrais, utilizaram na verdade, enxertos compostos de porções corticais e esponjosas, os quais resultaram em diferenças na arquitetura óssea entre os grupos estudados, demonstrando, por conseqüências, uma falta de padronização entre os grupos.

Sempre ocorre uma sobreposição de eventos como a osteogênese, osteoindução, e a osteocondução quando se trata de enxertos ósseos autógenos. Isso permite que uma formação óssea seja mais rápida, já que o enxerto apresenta além de um arcabouço que irá guiar a cicatrização óssea, células com potencial para depositar matriz mineral e proteínas, as quais irão

estimular a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos (GARG, 1999).

O tamanho da partícula do enxerto ósseo autógeno tem influência sobre o nível e o tempo de reabsorção. As partículas menores 0,5 a 2 mm³ são reabsorvidas mais rapidamente que as maiores 10 mm³, por possibilitar o aumento da superfície de contato com os tecidos adjacentes, sofrendo assim extensa reabsorção osteoclástica. Isso demonstra um alto nível de substituição óssea, comparado às partículas maiores. Pallesen et al., 2002 afirmam que o novo osso formado com as partículas menores tem um volume total maior e apresentava mais tecido ósseo maduro, comparado ao novo osso formado pelas partículas maiores, depois de duas a quatro semanas pós-enxertia em coelhos.

Smolka et al. (2006), avaliaram em seu trabalho, as mudanças ocorridas referentes à densidade e ao volume dos enxertos ósseos obtidos da calota craniana. Os autores puderam observar nas tomografias computadorizadas que ocorreu uma redução do volume da ordem de 16,2% após seis meses da enxertia e de 19,2% após um ano. Notaram também que a densidade óssea no período de um ano não se alterou.

3.3 ENXERTOS ÓSSEOS ALÓGENOS FRESCOS CONGELADOS

O enxerto ósseo humano fresco congelado é classificado como enxerto alógeno por ser advindo de doadores de mesma espécie.

Inclan (1942), realizou a primeira tentativa de se armazenar ossos para uso em cirurgias eletivas. A partir daí, várias técnicas foram propostas, para conservação e utilização de enxertos ósseos visando conservar seu potencial biológico.

Urist (1965) apresentou um dos primeiros trabalhos referentes ao uso de enxerto alógeno fresco e congelado. Relatou que os osteócitos constituíam maior número que qualquer outra forma celular. Estes poderiam ser responsáveis pela atividade de colagenase, provocando a dissolução da matriz extracelular. As células indutoras eram oriundas dos osteócitos fixos ou que proviam de células perivasculares de tecido conjuntivo jovem. O autor considerava o enxerto alógeno como um excelente substituto ósseo. Acreditava que a matriz morta era invadida por vasos sanguíneos e então rapidamente reabsorvida, formando assim novo osso em bolsas ou em câmaras que continham células proliferativas osteoprogenitoras.

Puranen (1966) estudou os enxertos autógenos frescos, e alógenos e autógenos congelados, usando fêmur de coelhos. Concluiu que a reorganização do osso dos enxertos autógenos frescos foi mais rápida e o novo osso formado pelo leito receptor ocorreu em maior quantidade. Não encontrou qualquer diferença entre os enxertos autógenos congelados e alógenos congelados. Acredita que os melhores resultados obtidos com o enxerto autógeno foram creditados ao fato de que células osteogênicas viáveis, e até mesmo alguns osteócitos, sobrevivem ao enxerto fresco após o transplante. Portanto, o enxerto autógeno fresco não serviria apenas como uma estrutura para guiar a neoformação óssea, mas daria também suporte para uma formação óssea mais intensa que nos enxertos preservados.

Avaliou inclusive o potencial da cicatrização dos enxertos autógenos frescos preservados ao ar livre e em solução salina, concluiu que o enxerto autógeno preservado ao ar livre, na temperatura da sala por aproximadamente uma hora, perde suas propriedades osteogênicas em uma proporção semelhante a dos enxertos congelados. Notou também que o enxerto preservado em solução salina evitou essa ocorrência por um período de até duas horas e, após três horas, o enxerto perdeu suas propriedades osteogênicas, na mesma proporção do osso congelado. Concluiu que o enxerto autógeno fresco corretamente manipulado é mais rápido e completamente incorporado do que os enxertos autógenos frescos incorretamente manipulados e os enxertos congelados, sejam eles autógenos ou alógenos.

Burwell (1968) caracterizou o osso liofilizado como sendo um enxerto seco e congelado. Relatou que a reabsorção é maior que a de um osso fresco congelado. Citou também que o grupo sanguíneo adverso entre doador e receptor não é importante na resposta imune ao enxerto.

Lane, Guggenheim e Egyedi (1972) criaram alguns defeitos mandibulares em macacos com a finalidade de comparar os enxertos ósseos autógenos e alógenos secos congelados. Durante o período entre 16 e 22 semanas, analisaram os resultados utilizando o exame clínico, radiográfico e histológico. Após 10 semanas, constataram diferenças no exame radiográfico onde as bordas do enxerto autógeno estavam menos radiopacas, menos delimitadas que os enxertos alógenos. Após 16 semanas, o estudo histológico apresentou nos enxertos autógenos, sinais de reabsorção e remodelação com atividade osteoclástica e osteoblástica e centros de ossificação. Nos enxertos alógenos, sinais de reabsorção em algumas áreas.

Foi observado também, incorporação ao sítio residual, formação de novo osso, mas com atraso na remodelação. Os autores sugerem que o enxerto com osso alógeno é uma alternativa para preenchimento de defeitos ósseos e sugerem a não utilização dos dois tipos de enxerto no mesmo paciente, pois o enxerto alógeno pode gerar reações imunogênicas atrasando assim a incorporação do enxerto ósseo autógeno.

Parrish (1973) utilizou de enxertos alógenos congelados para tratar pacientes com grandes tumores, situados no final de ossos longos. Foram excisadas as partes ósseas acometidas pelo tumor, e após foi realizada a enxertia com o osso alógeno congelado incluindo uma superfície articular. O doador cadavérico teve teste sanguíneo negativo para sífilis e sem histórico de icterícia. O enxerto foi limpo sem deixar vestígio de tecido mole. Logo em seguida, este material foi estocado a -20°C por três semanas. Vinte e quatro horas antes do procedimento cirúrgico, o enxerto foi submerso em uma solução de 1% de neomicina, à qual foram acrescentadas 500.000 unidades de bacitracina. Em 11 anos, 21 pacientes foram operados. Até a data da publicação do estudo, 16 ainda tinham os seus membros; 3 sofreram amputação; um deles por recorrência do tumor, outro por desintegração do enxerto e um terceiro por infecção; 1 faleceu de embolismo pulmonar; e 1 não retornou para acompanhamento. O autor considerou os resultados satisfatórios, e preconizou a continuidade da técnica, principalmente em situações que a amputação era necessária.

Urist (1976), estudando os enxertos autógenos e alógenos, relatou o que usamos como base para as pesquisas com aloenxertos. O autor descreveu as importantes propriedades biológicas do tecido ósseo

específicas como osso medular e osso cortical. Dividiu os processos em fases sendo a primeira fase a osteogênese: síntese de novo osso formado pelas células do leito receptor e do enxerto. O início do processo de incorporação se dá durante a primeira semana após a cirurgia. O osso medular se apresenta coberto por células com bom potencial para produzir novo osso superior ao osso cortical. O autor cita a existência de proteínas morfogenéticas (BMPs) como fator preponderante para esse recrutamento, por estarem presentes tanto nos enxertos alógenos como também nos autógenos frescos. O autor explica que a incorporação do enxerto se dá em cinco estágios: inicia com um processo inflamatório, após ocorre a revascularização, osteoindução, osteocondução e finalmente a remodelção que conclui uma estrutura mecanicamente eficiente. O autor também define a osteocondução como a invasão de células osteogênicas do leito para dentro do enxerto. O enxerto funciona como uma estrutura ou matriz para o crescimento até que o futuro osso possa suportar carga.

Segundo Burchardt e Eneking (1978), a osteogênese ocorre mais precocemente nos enxertos autógenos quando comparados com os enxertos alógenos. Após uma semana, nos enxertos autógenos, pode-se perceber indícios de formação óssea na periferia. Já nos enxertos alógenos, a osteogênese pode-se iniciar somente após a quarta semana pelo leito receptor. Isso ocorre por que há uma deficiência vascular inicial, embora a revascularização total possa ser alcançada em até oito meses. Os autores relatam que o osso alógeno fresco sem congelamento, pode ser rejeitado como resposta do sistema imunológico do hospedeiro. A histobiocompatibilidade antigênica da cartilagem e do osso alógeno são

presumivelmente a proteína ou a glicoproteína da superfície celular, enquanto os componentes citoplasmáticos e nucleares, além da matriz, podem não ser reconhecidos para iniciar a rejeição do transplante.

Ao tentarem reparar defeitos ósseos na calota craniana de cobaias, Marques et al. (1980) estudaram ossos conservados em glicerina em temperatura ambiente por períodos que variaram entre 25 e 600 dias. Os enxertos foram de osso autógeno, alógeno fresco e alógeno conservado em glicerina. Todos os 3 grupos apresentaram reparação após 360 dias. Apesar da glicerina ter sido utilizada para diminuir a antigenicidade, isto não foi confirmado neste estudo, pois o enxerto alógeno apresentou reparação no período tardio.

Tomford et al. (1983), discutiram os aspectos legais envolvidos na autorização para doação, aspectos logísticos para procura de doadores, localização e remoção de ossos como sendo procedimentos necessários para o estabelecimento de um banco de ossos. A melhor forma é trabalhar com banco de ossos já estabelecidos e concluíram que a esterelização secundária não se faz necessária e que a melhor forma de captação do tecido ósseo é de doadores sadios, com remoção sob condições estéreis

Segundo Pelker et al. (1984), os fatores determinantes para as propriedades físicas iniciais dos enxertos alógenos são: área doadora eleita, a idade, o gênero e as características físicas do doador. Também um fator importante, é o método de escolha para se preservar e armazenar o enxerto para o futuro uso. O congelamento a -20°C produz poucas mudanças nas propriedades físicas do enxerto ósseo, mas não evita a autólise enzimática em estocagens por períodos longos. Portanto, para se armazenar o

biomaterial por períodos maiores, é preferível optar pelo congelamento a temperaturas mais baixas, ou congelamento seguido por desidratação, processo esse conhecido por liofilização. Os autores lembram que o osso congelado apresenta uma maior tolerância a cargas torcionais que o osso liofilizado.

Wilson, Rhineland e Stewart (1985), concluíram em seu estudo, que não existem mudanças no padrão da remodelação mesmo o enxerto alógeno congelado apresentando uma vascularização mais lenta e uma remodelação atrasada em comparação ao enxerto autógeno. Os autores estudaram o padrão de remodelação óssea em defeitos ósseos criados na tíbia e ulna de cachorros, e afirmaram ainda que enxertos ósseos xenógenos são pobremente incorporados, com uma vascularização lenta e incompleta, diferente dos alógenos congelados, com reações de corpo estranho evidenciadas histologicamente.

Segundo Goldberg et al. (1985), os enxertos ósseos alógenos frescos congelados, quando são aplicados em um indivíduo criteriosamente compatível com o doador do tecido, apresentam uma incorporação significativamente melhor que em indivíduos de outra origem genética. Verificaram que enxertos alógenos de doadores distintos, utilizados em receptores imunossuprimidos, não se distinguiram, após seis meses, do grupo em que os indivíduos eram compatíveis (não-suprimidos) e do grupo-controle autógeno.

Goldberg e Stevenson (1987) relataram que o processo de congelamento e de liofilização melhora a aceitação do material alógeno. Em modelos animais, o enxerto alógeno cortical fresco funciona pobremente e

invoca extensa resposta imune, que aumenta a reabsorção e atrasa a revascularização. Os vasos que migram do leito receptor são circundados por células inflamatórias que os bloqueiam causando degeneração. A medular é invadida inicialmente por granulação fibrosa, e a transformação em medular normal só é vista após vinte e quatro meses. Uma ampla necrose osteocítica está presente por duas semanas, novo osso aposicional ocorre esporadicamente e, sempre após dois anos do transplante, permanecem grandes áreas de osso necrótico. A reorganização do osso cortical atrasa e ocorre somente durante o segundo ano após transplantação.

Segundo Friedlaender (1987), o osso fresco congelado é seguro e eficaz, se submetido a critérios de seleção dos doadores e técnicas de armazenamento adequadas. Os bancos de ossos fornecem tecidos adquiridos de doadores vivos e cadavéricos. Segundo o autor, o material proveniente de tais bancos pode ter aplicabilidade em numerosos procedimentos reconstrutivos.

Segundo Buck; Malinin; Brown (1988), quando são observadas as devidas preocupações e testes adequados realizados em laboratórios, o risco de utilizar ou receber um aloenxerto de um doador recém-infectado por HIV não-reconhecido é de aproximadamente 1:1.600.000.

Czitrom et al. (1988), comentaram a importância do desenvolvimento e utilização de bancos de tecidos ósseos. Relataram a importância do uso de enxertos alógenos para preenchimento de cavidades e áreas atróficas também combinados com o osso autógeno para se obter uma maior quantidade de osso disponível.

Itoman e Nakamura (1991) investigaram os efeitos de várias técnicas de processamento dos enxertos com relação às propriedades biomecânicas e à incorporação histológica em ratos. Os ossos descalcificados demonstraram ser muito moles, diferentemente dos ossos congelados e secos congelados, os quais demonstraram rigidez. A proporção de incorporação óssea, proposta como um indicador histológico de propriedades osseointegrativas, foi melhor nos enxertos autógenos frescos, seguidos pelos enxertos processados (congelado, seco congelado e desmineralizados) e, por último, pelos enxertos alógenos frescos.

Perrot, Smith e Kabam (1992) citaram que a maior vantagem do osso fresco congelado sobre o osso liofilizado é que as proteínas osseointegrativas não são destruídas durante o processamento, o que pode resultar em uma melhor formação óssea e na diminuição da reabsorção em longo prazo. Uma outra vantagem refere-se à possibilidade do uso de blocos cortico-esponjosos, o que não é possível após processamentos tais como a desmineralização, a qual diminui a resistência do material. Os autores avaliaram os resultados do uso de osso fresco congelado, utilizado isoladamente ou em combinação com o osso autógeno para a reconstrução dos maxilares, com a finalidade de instalação de implantes. Relataram que, no momento da instalação dos implantes, o enxerto estava bem incorporado e vascularizado em todos os 10 pacientes. O sucesso dos implantes foi de 96,5%, percentual próximo da média de sucesso dos implantes instalados sobre regiões previamente enxertadas com tecido autógeno, conforme relato na literatura.

Hardin (1994) afirmou que os bancos de ossos representam uma fonte quase ilimitada de material para reconstrução, e que muitas formas de enxertos provenientes de bancos de ossos alógenos estão disponíveis para o cirurgião. Dentre os enxertos disponíveis estão os frescos, os frescos congelados, os secos congelados e os ossos desmineralizados. A utilização do osso alógeno congelado entre temperaturas de -20°C a -17°C tem a vantagem da técnica simples de preparo e estocagem, mas tem como desvantagem a necessidade de manter o osso sob um congelamento contínuo e monitorado para evitar degelo acidental, e a de não destruir vírus e esporos. Segundo o autor, o osso, uma vez descongelado, apresenta as mesmas características físicas do osso autógeno fresco.

Em 1995, Thóren, Aspenberg e Thorngren realizaram um estudo em 34 coelhos. Com o intuito de remover gordura do interior dos tecidos para diminuição da reação imunológica, utilizaram metanol e clorofórmio. Através de análise histomorfométrica e testes biomecânicos, mostraram a invasão de vasos e células no interior dos enxertos facilitando o processo de formação e reabsorção dos tecidos. Apesar dos testes biomecânicos não demonstrarem diferenças entre os enxertos com ou sem remoção do tecido gorduroso, os autores concluíram que os enxertos alógenos foram melhores e rapidamente incorporados com a remoção do tecido gorduroso.

Tomford (1995), preocupado com possíveis doenças transmitidas pelos materiais alógenos, publicou uma revisão apresentando as possíveis infecções atribuídas aos materiais alógenos, o potencial de risco e como minimizar os eventuais riscos. Relata que para segurança deve-se seguir o protocolo de segurança elaborado pela *American Association of Tissue Bank*

(AATB) dos Estados Unidos. Esta associação determina normas para seleção dos doadores, captação, processamento e utilização dos transplantes. O autor relata que somente dois casos de transmissão do vírus HIV foram encontrados nos Estados Unidos em 1988. Os pacientes doadores não passaram pelo teste do HIV e um paciente era usuário de drogas, e esta informação não foi relatada. Portanto, Tomford relata que os riscos de contaminação podem existir desde que o banco de tecidos não siga as normas da AATB. Relata ainda que os pacientes receptores dos materiais alógenos devem ser alertados da possibilidade de risco de transmissão de doenças.

Em julho de 1997, a agência americana Food and Drug Administration (FDA) publicou as exigências industriais que estabelecem regras para a triagem do doador. Essas regulamentações ajudaram a assegurar que os tecidos dos doadores fossem apropriadamente triados. Além da triagem do doador, a AATB também apresenta requisitos para processamento, classificação e procedimentos de distribuição. Os bancos e processadores de tecidos que atendem a esses critérios merecem credibilidade (KAGAN, 1998 apud BOYCE; EDWARDS; SCARBOROUGH, 1999).

Virolainen, Vuorio e Aro (1997), afirmaram que a expressão do código genético da matriz óssea extracelular pode ser afetada entre receptor e doador gerando uma grande incompatibilidade. Isso poderia afetar o processo atrasando a nova formação óssea na interface entre enxerto ósseo cortical alógeno congelado e o leito receptor.

De acordo com Tomford e Mankin (1999), a fonte mais comum para obtenção do enxerto alógeno é o doador cadavérico. Os autores relataram que a preocupação com doenças transmissíveis (AIDS, hepatite B e C) pelo

uso de ossos alógenos parece estar diminuindo, resultado do uso de testes de sangue altamente sensíveis, como por exemplo o PCR (*polymerase chain reaction*), capaz de detectar o vírus no doador, inclusive no início da inoculação, algo em torno de sete dias. Outro teste disponível é o *genome amplification test*, que detecta a presença do vírus HIV e da hepatite C no sangue do doador pela detecção do RNA (*ribonucleic acid*) do vírus. Outro método considerado imprescindível para prevenção da transmissão de doenças é a triagem do doador com base no histórico médico, o que elimina cerca de 90% dos doadores inapropriados. A AATB desenvolveu um modelo padronizado de histórico médico, utilizado em todos os bancos que seguem suas diretrizes. Os pesquisadores afirmaram que, até a data da publicação do artigo, o último caso reportado de AIDS transmitida através de enxerto alógeno foi em 1992, como resultado de um enxerto feito em 1985.

Hamer, Stockley e Élson (1999) estudaram formas de irradiação de enxertos em diferentes temperaturas. Prepararam 30 anéis de fêmur, provenientes de três pacientes e dividiram em dois grupos. Um grupo foi mantido a temperatura ambiente e o outro grupo a -78°C . Os dois grupos foram submetidos a doses de 30,2 KGy de irradiação gama. Posteriormente foram submetidos a testes biomecânicos. Os autores observaram que a irradiação do osso congelado a -78°C produziu menor alteração biomecânica. Relatam que o processo de irradiação deve ser realizado nos tecidos, a uma temperatura de -70°C para que a transmissão do vírus HIV não ocorra.

Campbell e Li (1999) realizaram um estudo para esterelização de ossos alógenos por um método de irradiação gama. Observaram como

resultado que a dose de inativação do HIV nos ossos foi 35K Gy e este método pode ser complementar para evitar a contaminação dos enxertos.

Tomford (2000), reapresentou um estudo retrospectivo de 120 anos ressaltando que no início da utilização dos enxertos alógenos, não havia legislação que desse suporte. Somente entre os anos de 1980 e 2000, com a maior procura dos tecidos, houve uma preocupação maior dos Bancos de Tecidos em realizar testes para evitar a transmissão de doenças. Mesmo com a segurança dos enxertos alógenos que os banco de tecidos ofertam, o autor cita a importância de se acompanhar no futuro os resultados da incorporação e remodelação e como o enxerto reagirá.

Accetturi et al. (2000), descreveram reconstruções de defeitos ósseos em mandíbula e maxila, utilizando osso humano congelado proveniente da cabeça de fêmur. Utilizaram 26 pacientes no estudo. Não observaram contração da cicatrização nos defeitos circunscritos, mas observaram que nos defeitos de uma e duas paredes, a contração da cicatrização ocorrida nos seis primeiros meses foi de 10 a 15% chegando a 20% no primeiro ano. O novo osso formado suportou torques de 45 Newtons mostrando ser ideal para colocação de implantes. Os autores concluíram que o osso congelado é um bom material para reconstruções ósseas em defeitos maxilares e mandibulares e que permite a formação de um osso organizado num período de 4 a 6 meses tendo boa resistência e baixa contração de cicatrização.

Segundo Malloy e Hilibrand (2002), a técnica preconizada pela AATB para se processar o osso alógeno congelado, preserva as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs) mas não erradica completamente os vírus, inclusive o HIV. Em contrapartida ao osso alógeno fresco congelado, o processo para

obtenção do osso seco congelado (liofilizado) destrói todo material de DNA dos vírus, mas também desnatura as BMPs.

Segundo Delloye et al. (2002), tentando acelerar o processo de incorporação de enxertos alógenos em tíbias de ovelhas, as perfurações realizadas nos enxertos corticais favoreceram maior revascularização, penetração de células e aumento da remodelação dos enxertos e sua incorporação aos tecidos vizinhos. Utilizando dois grupos sendo o primeiro sem perfurações e no segundo realizaram perfurações corticais de 1mm de diâmetro e distantes entre elas 5mm. Após seis meses, avaliaram os resultados e somente 25% não houve união com o osso residual e não ocorreram diferenças estatísticas significantes entre as densidades ósseas nos dois grupos. Histomorfometricamente, mostrou existir três vezes mais formação de novo osso no grupo teste.

Shand et al. (2002) desenvolveram um estudo em defeitos críticos na calvária de coelhos onde foram aplicados enxertos autógenos e enxertos alógenos frescos congelados, esterilizados por irradiação gama. O osso alógeno foi coletado de coelhos provenientes de outro local e processados de acordo com o protocolo do banco de ossos de Victoria (Austrália). Após um período de nove e doze meses, os coelhos foram sacrificados e os espécimes examinados radiograficamente, histopatologicamente e com microscopia de fluorescência. Em ambos os grupos, o exame radiográfico mostrou união óssea. A análise histológica revelou que tanto o grupo autógeno como o grupo alógeno fresco congelado demonstraram disposição com osso vital, mas a revitalização de todo o enxerto não estava completa após doze meses. Em todos os enxertos, foi observada neovascularização

nos espécimes. Foi verificada uma neoformação óssea ativa com a presença de osteoblastos e encontradas evidências de uma contínua reabsorção dos enxertos, com a presença de osteoclastos multinucleados. Múltiplas linhas reversas estavam evidentes, indicando remodelação do osso enxertado. Segundo os autores, este estudo mostrou que enxertos alógenos congelados irradiados foram incorporados pelos processos de osteocondução e osteoindução. Foi demonstrada, tanto histologicamente como pela microscopia de fluorescência, formação de múltiplas áreas de novo osso, inclusive centralmente, estando o enxerto distante das superfícies endosteais e periosteais. Os pesquisadores especularam que o processo de incorporação do osso congelado irradiado é mais lento, apesar de contar com mecanismos osteocondutores e osteoindutores. Isso poderia ser o resultado de um potencial mais baixo para osteoindução desse material, quando comparado ao enxerto autógeno.

Vaccaro e Cirello (2002), mostraram as vantagens do uso de osso alógeno fresco congelado em reconstruções de defeitos em coluna vertebral cervical relatando que este é o material de escolha por apresentar a mesma resistência do osso autógeno e por não perderem as proteínas morfogenéticas (BMPs) durante o processamento, tornando-se osteocondutores e osteoindutores. Os autores concluíram que a combinação de osso cortical alógeno com osso medular autógeno compensou os problemas e foi utilizado com frequência em fraturas de coluna vertebral.

Leonetti e Koup (2003) publicaram relatos de casos com a utilização de ossos alógeno na forma de blocos para aumento de rebordo previamente à instalação de implantes. Segundo os autores, os casos apresentados

demonstraram clinicamente a eficácia de utilizar um bloco de enxerto alógeno com o intuito de gerar um preenchimento ósseo efetivo para instalação de implantes.

Torrezan et al. (2003), demonstraram a utilização de osso alógeno congelado para reconstrução de áreas atróficas impossibilitadas para a colocação de implantes. Utilizaram duas formas de enxertia: em bloco para aumentar a espessura óssea, e particulado para levantamento de seio maxilar. Algumas vantagens foram relacionadas com esses tipos de enxertos. A ausência de um segundo leito cirúrgico, diminuição do tempo de cirurgia, menos perda sanguínea, redução do potencial de infecção e de deformidades cosméticas no leito doador. Observaram que os pós-operatórios foram menos traumáticos e que não houveram diferenças clínicas e radiográficas em relação aos enxertos autógenos. Relataram também que os riscos de transmissão de doenças são praticamente inexistentes, devido ao controle e testes realizados nos tecidos ósseos.

Petrungaro e Amar (2005) relataram três casos clínicos nos quais foram utilizados enxertos em bloco de osso alógeno, com a finalidade de uma futura reabilitação implanto-suportada. Em todos os casos, realizou-se uma análise histológica do osso e foi observada uma nova formação óssea agregada ao osso original. Em um dos casos, foram feitas próteses unitárias sobre implantes na região enxertada e, após um período de um ano e meio em função, a crista óssea reconstruída foi mantida ao longo do tempo.

Mankin et al. (2005), no período entre 1971 e 2001, em 945 pacientes, relataram os riscos de complicações com os enxertos alógenos. O risco médio de infecção foi de 12,8%. Isto deve-se ao fato de vários procedimentos

terem sido realizados antes da criação das normas e protocolo da AATB. Relatam a importância de se ter acesso a um bom banco de tecidos, que assegurem ao cirurgião o baixo risco de infecção.

Após quatro e seis meses da realização de 82 procedimentos de reconstrução óssea em 73 pacientes, Keith et al. (2006) realizaram a colocação dos implantes e acompanharam estes pacientes por até 36 meses. Obtiveram um sucesso de 99% e observaram que 69% não apresentaram mais sinais de reabsorção. Os 31% restantes tiveram reabsorção de até 2mm. Histologicamente observaram sinais avançados de remodelação e incorporação após seis meses. Concluíram que o material alógeno possui resultados satisfatórios.

Jacotti (2006) apresentou uma técnica cirúrgica com enxerto de osso alógeno, utilizando a prototipagem para tornar o processo mais rápido e menos agressivo ao paciente, pois reduz o tempo de preparo e melhora a adaptação do bloco no leito receptor.

Laitinen, Kivikari e Hirn (2006) relataram que os tecidos ósseos possuem células gordurosas no seu interior, lipídios, que sofrem oxidação com o tempo aumentando assim a toxicidade do material. As temperaturas em torno de -40°C promovem rápida oxidação dos lipídios e que temperaturas a -70°C em criopreservação, não se encontra oxidação dos lipídios em períodos de até 3 anos. Com isto a qualidade dos enxertos estão garantidos.

Macedo (2006) utilizou blocos cortico-medulares para ganho em altura de rebordo alveolar. Realizou 16 procedimentos sendo 10 blocos para maxila

e 6 blocos para reconstruções mandibulares. Sete meses após, avaliou, através de tomografias computadorizadas antes e após o procedimento de enxertia, a formação óssea. Durante o período pós-operatório e controle, 3 blocos tiveram exposição. O autor observou que o enxerto alógeno teve baixa taxa de reabsorção (média de 20%). Concluiu que o enxerto alógeno fresco congelado é um possível substituto ao enxerto ósseo autógeno para reconstruções de defeitos ósseos previamente a instalação de implantes, mas que necessita de novos estudos.

Limberte (2006) avaliou o uso de enxerto autógeno e osso alógeno fresco congelado associados ou não a tetraciclina em calota craniana de coelhos. O estudo utilizou cilindros parafusados na calvária de 10 coelhos em dois períodos de avaliação (08 e 12 semanas). O autor descreveu em seus resultados que, nos dois períodos de avaliação, o grupo AB - osso autógeno associado a osso alógeno fresco congelado apresentou aumento significativo de volume em relação ao grupo A - osso autógeno puro; e que o grupo ABT - osso autógeno associado a osso alógeno fresco congelado e à tetraciclina apresentou um aumento significativo de área de densidade óssea quando comparado com o grupo AB - osso autógeno associado a osso alógeno fresco congelado.

Rocha, Assis Rocha e Moraes (2006), com a finalidade de demonstrar a reconstrução óssea alveolar com finalidade de colocação de implantes utilizando enxertos alógenos congelados, realizaram 42 casos clínicos. Após 6 meses, removeram os parafusos e realizaram a instalação dos implantes. Avaliaram radiograficamente e observaram que os enxertos alógenos promoveram aumento ósseo alveolar em todos os 42 casos. A taxa de

reabsorção foi semelhante em todos os 42 casos, entretanto, em 4 casos houve a necessidade de uma nova enxertia antes ou no momento da instalação dos implantes. Os autores concluíram que o enxerto de osso alógeno congelado foi uma alternativa viável.

Rajan et al. (2006), usando dois grupos neste estudo, compararam o fechamento de fraturas cominutivas na porção distal do rádio em 90 pacientes. Em um grupo utilizou osso autógeno proveniente de crista ilíaca e no outro grupo enxerto alógeno fresco congelado. A diferença estatisticamente insignificante, os grupos tiveram 71% de sucesso para enxertos alógenos contra 75% dos autógenos. Concluíram que os enxertos alógenos podem ser utilizados no lugar dos enxertos autógenos, porém as cirurgias com enxertos alógenos mostraram um tempo cirúrgico muito menor comparando com os enxertos de osso autógeno.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Para realização dos enxertos ósseos foi necessário a utilização de:

4.1.1 Material Permanente:

- a) 1 kit de parafusos para fixação de enxerto ósseo da marca Conexão[®];
- b) 1 motor cirúrgico Osseocare – Nobel Biocare[®];
- c) Broca Maxi-Cut para peça reta;
- d) Broca 700L carbide para peça reta;
- e) Peça angulada multiplicadora Kavo[®], mod. 3555;
- f) Instrumental cirúrgico

4.1.2 Material de consumo:

- a) 40 pares de luva estéreis para cirurgião e auxiliar;
- b) 60 pacotes de compressas de gaze estéreis;
- c) 40 Lâminas de bisturi nº 23;
- d) 20 Kits descartáveis de paramentação estéril;
- e) 15 aspiradores estéreis cirúrgicos descartáveis;
- f) 15 frascos de Soro Fisiológico 0,9% estéril de 250 ml.;

- g) 15 Agulhas gengivais para seringa carpule curta 30G;
- h) 30 Parafusos para osteosíntese da marca Conexão[®] 1.5 de diâmetro com 6mm de comprimento;
- i) 30 Fios de sutura 4-0 mononylon com agulha de 1,7 cm Johnson & Johnson[®]

4.1.3 DROGAS UTILIZADAS

- a. Anestésico geral à base de Ketamina – Francotar^{®1}
- b. Xilasina²;
- c. Dolantina³;
- d. Antibiótico Flotril 2,5%;
- e. Analgésico e Antiinflamatório – Banamine^{®4};
- f. Thiopental⁵;
- g. Cloreto de Potássio⁶;
- h. 48 tubetes de anestésico local Cloridrato de lidocaína a 2% com Epinefrina 1:100.000 (DFL[®]);
- i. Dipirona Sódica⁷;

¹ Virbac do Brasil Ind. E Com., Roseira - SP – Brasil

² Agener União – Saúde Animal

³ Cristália – Brasil

⁴ Schering-Ploug S/A, Rio de Janeiro - RJ – Brasil

⁵ Cristália - Brasil

⁶ Samtec Biotecnologia

⁷ Fort Dodge, Campinas – Brasil

j. Água purificada para injeção – WPI⁸

k. Solução de Iodo Povidini 1%⁹;

4.2 Métodos

4.2.1 Animais

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética da Universidade de Santo Amaro registrado com o parecer nº 059/2007, registro no CEP UNISA nº 073/07 no dia 20 de junho de 2007, em acordo com a resolução 196/96 sobre diretrizes e normas regulamentadoras.

A pesquisa foi realizada de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), entidade filiada ao International Council of Laboratory Animal Science (ICLAS), segundo normas internacionais para a utilização de animais em pesquisas embasadas no tríade “sensibilidade, bom senso e boa ciência”.

O experimento foi desenvolvido durante o período de maio de 2007 a setembro de 2007. Todos os coelhos foram provenientes do laboratório de pesquisa do biotério do Laboratório Universitário de Análises Toxicológicas (UNITOX) da Universidade Santo Amaro (UNISA), assistidos e medicados por técnicos veterinários, e as cirurgias realizadas nas dependências da Faculdade de Medicina Veterinária da UNISA.

⁸ Lab. Sanobiol Ltda, Pouso Alegre – Brasil

⁹ DGL, São Paulo, Brasil

Foram utilizados 18 (dezoito) coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça New Zealand fêmeas, pesando entre 3,5 a 4 kg e idade entre 3 e 4 meses. Foram separados 3 (três) coelhos para serem os doadores do material alógeno, e para os procedimentos cirúrgicos experimentais, foram utilizados 15 coelhos que foram separados aleatoriamente em três grupos.

a) Coelhos doadores

Todo o processo para indução anestésica preparo dos animais e procedimento cirúrgico, foram realizados da mesma maneira como explicado mais adiante em “anestesia e preparo dos animais”, “procedimento cirúrgico” e “eutanasia”.

Foi realizada a coleta dos dois fêmurs de cada coelho. Foram removidos qualquer tipo de tecido fibroso que se encontrasse em sua superfície com auxílio de descoladores ósseos. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em pacotes estéreis e colocadas em caixa de isopor com gelo seco, tomando o cuidado para que se mantivessem em baixa temperatura. Após sua embalagem, foram enviadas imediatamente para o banco de tecidos Musculoesqueléticos do Hospital de Marília, em São Paulo - Brasil (UNIOSS). Estes passaram pelo processo de congelamento do banco de tecidos e então remetidos de volta à Universidade de Santo Amaro na forma de 15 anéis com 10 a 12 mm de comprimento, compostos apenas pela porção cortical do fêmur.

b) Coelhos da pesquisa

Os 15 coelhos restantes foram separados aleatoriamente em 3 grupos (n=5) sendo:

Grupo I: animais que permaneceram com os enxertos por 4 semanas;

Grupo II: animais que permaneceram com os enxertos por 8 semanas;

Grupo III: animais que permaneceram com os enxertos por 12 semanas.

Os coelhos foram acondicionados em local apropriado com ventilação e temperaturas controladas ($22 \pm 2^\circ \text{C}$). Os animais passaram por um período de climatização e foram alimentados com ração Nutríara e água administrada *ad libitum*. A higienização das gaiolas foi realizada de acordo com as normas do biotério da Unitox sendo realizada a troca da maravalha estéril diariamente.

4.2.2 Anestesia e Preparo dos Animais

Os animais foram pesados para que fosse utilizada a quantidade de droga anestésica ideal para cada animal. A indução anestésica foi realizada, por via intramuscular na parte posterior da coxa. Os animais foram anestesiados seguindo o protocolo da universidade da disciplina de veterinária:

- Ketamina - 2,1 ml / coelho / IM
- Xilozina – 0,9 ml / coelho / IM
- Dolantina – 0,5 ml / coelho / IM

Para verificação do plano anestésico foram avaliados os seguintes parâmetros:

- a) Relaxamento muscular: analisado pelo relaxamento mandibular;
- b) diminuição da frequência cardíaca e respiratória;
- c) Reflexos: Podal – ausência de reflexo de retirada ao estímulo doloroso realizado pelo pinçamento da membrana interdigital; Auricular – ausência de resposta motora ao pinçamento da base da orelha.

Após a anestesia e verificação do plano anestésico, a tricotomia (Fig. 1) foi realizada nas áreas a serem operadas: região de íliaco e base de mandíbula bilateralmente. Por fim, realizada antissepsia de campo com auxílio de uma escova embebida em solução degermante de iodopovidona (DGL, São Paulo, Brasil) nas áreas a serem operadas. Para a manutenção da assepsia durante a cirurgia, foram colocados campos estéreis sobre o coelho, expondo apenas as áreas de interesse. A oxigenação dos coelhos durante todo o procedimento foi realizada através de uma máscara inalatória disposta na cabeça do animal. Durante todo o período do procedimento, a frequência respiratória e cardíaca foram monitoradas por um veterinário responsável.



Fig. 1: Imagem da tricotomia da região do íliaco

4.2.3 Procedimento Cirúrgico

O local da incisão foi padronizado na porção mais superior da crista íliaca a fim de não ter a interferência da musculatura da região tanto na incisão quanto no descolamento. Para exposição do tecido ósseo do íliaco (Fig. 2) do animal, uma incisão retilínea com um retalho de espessura total de aproximadamente 3cm foi realizada utilizando uma lâmina de bisturi n°23. Com auxílio de descoladores de periósteo a área doadora foi exposta. Afastadores de tecido mantiveram a área cirúrgica exposta auxiliando no procedimento. Posteriormente, para a obtenção do bloco de osso autógeno, contamos com o auxílio de brocas carbide 700L em instrumentos rotatórios em alta rotação.

Somente a porção mais central do íliaco foi retirada. Mantivemos todo o contorno, para não fragilizar ainda mais a região doadora. Com auxílio de fio mononylon 4-0 (Ethicon®), suturas simples interna e externa foram realizadas.



Fig. 2: Imagem do íliaco e o bloco osteotomizado.

O bloco ósseo removido do íliaco, foi então mantido em um recipiente de vidro com tampa e coberto com solução salina estéril o menor tempo possível para logo ser transplantado na região receptora (mandíbula lado esquerdo).

A incisão na região receptora foi realizada na borda inferior da mandíbula (Fig. 3) próxima ao ramo ascendente. Com auxílio de descoladores, promovemos o afastamento de todo periósteo deixando o osso na área receptora desnudo. Iniciamos primeiramente pelo lado esquerdo onde colocamos o enxerto autógeno para que o mesmo ficasse o menor tempo possível fora do organismo do animal. Foram realizadas pequenas perfurações

na cortical da mandíbula para aumentar a nutrição sangüínea para o enxerto, sendo a área refrigerada com o uso abundante de irrigação com solução salina estéril. Todos os blocos, tanto autógenos quanto alógenos, foram previamente medidos (comprimento e largura) com auxílio de uma sonda periodontal milimetrada, para posterior verificação clínica da remodelação óssea. Para esta medição utilizamos a área mais central do bloco ósseo.



Fig. 3: Área receptora do corpo mandíbula direita pronta para receber o enxerto alógeno

Toda a seqüência de incisão, descolamento e cuidados realizados na mandíbula esquerda, foi repetida na mandíbula no lado direito.

O osso de coelho fresco congelado que se encontrava estocado em um freezer a uma temperatura de -80°C foi retirado deste e armazenado em soro

fisiológico por um período de 15 minutos para que ocorresse o descongelamento antes da colocação do leito receptor (mandíbula direita). Este bloco ósseo foi regularizado com o uso de brocas irrigadas com soro fisiológico até se conseguir a adaptação desejada, antes de sua fixação.

Após estes cuidados, os blocos ósseos foram estabilizados com parafuso de fixação da marca Conexão[®] medindo 1,5 x 6 (Fig. 4).

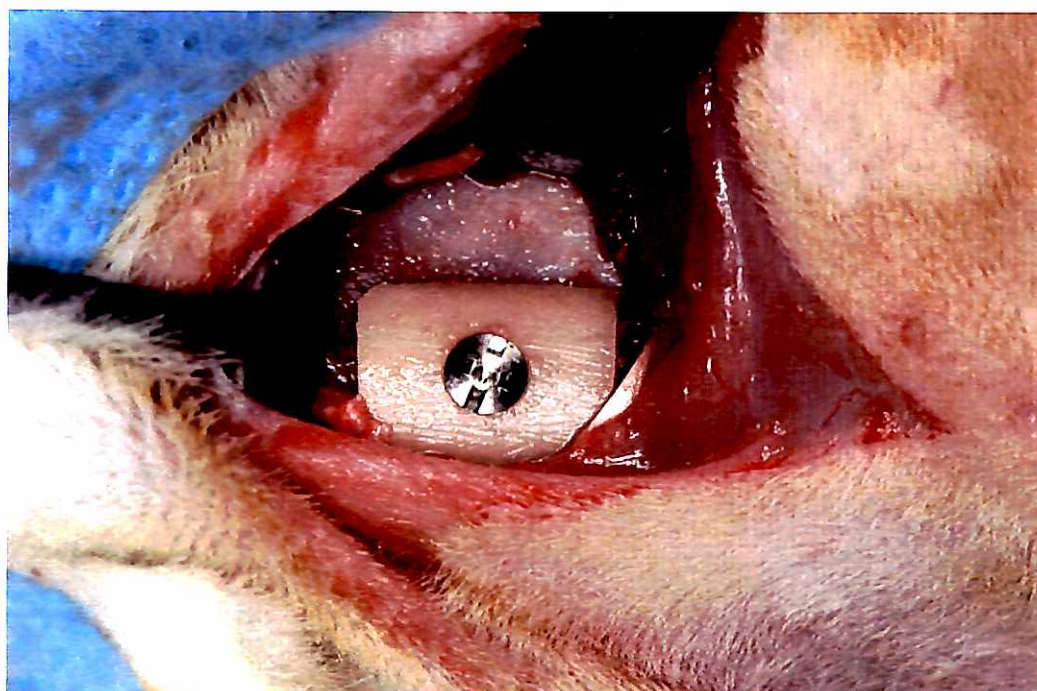


Fig. 4: Imagem do bloco de osso alógeno sendo enxertado na base da mandíbula direita

Antes da sutura, foi verificada a passividade do fechamento do retalho e, caso houvesse tensão do retalho seria realizada uma incisão de alívio no perióstio na base do retalho. Em nenhum dos casos houve tal necessidade. A síntese das feridas cirúrgicas foram realizadas com fios de sutura Mononylon 4-0 com pontos simples internos e externos.

4.2.4 Controle Pós-operatório

Após a cirurgia os coelhos foram medicados com analgésicos, antibióticos e antiinflamatórios, e acompanhados até a sua total recuperação.

Pós-Operatório:

- antibiótico: Flotril 2,5% - 2 ml / coelho / SID / 7 dias / SC
- antiinflamatório: Bamamine – 0,3ml / coelho / SID / 3 dias / SC
- analgésico: Dipirona Sódica 0,25 mg/Kg / SC

4.2.5 Eutanásia

Respeitando o período de cada grupo, os coelhos foram sacrificados em 4, 8 e 12 semanas, formando os grupos I, II e III respectivamente. Cinco coelhos em cada grupo.

Os coelhos foram eutanasiados por overdose de fármacos (Fig. 5) da seguinte forma:

1. Anestesia:

- Ketamina – 4,0 ml / coelho (ml)/ IM
- Xilozina – 2,0 ml / coelho / IM
- Dolantina 1,0 ml / coelho / IM

2. Eutanásia:

- Thiopental – 10ml / coelho / IC
- Cloreto de Potássio – 10 ml / coelho / IC



Fig. 5: Após sedação, injeção de fármacos no coração do coelho: Eutanásia

4.2.6 Remoção das amostras

Decorrido o tempo de cirurgia para cada grupo e os animais terem sido sacrificados utilizando-se a técnica preconizada pelo COBEA, realizamos a coleta das amostras. Com auxílio de uma broca Carbide 700L, a osteotomia foi realizada envolvendo no bloco removido o osso neoformado/enxertado e o osso

pré-existente com uma margem de segurança (Fig. 6 e 7). Todos os blocos ósseos foram novamente mensurados. Com auxílio de uma sonda milimetrada, usando-se a porção mais central do bloco enxertado (autógeno e alógeno), obtivemos as medidas finais para análise macroscópica da quantidade da reabsorção óssea durante o período de reparação.

Em seguida, as amostras foram imersas em solução de formol a 10% e encaminhadas para o laboratório de matriz extracelular da disciplina de Histologia e Biologia estrutural do Departamento de Morfologia da UNIFESP para descalcificação, preparo das lâminas e coleta dos dados histológicos através da microscopia de luz.



Fig. 6: Imagem da mandíbula com o enxerto autógeno incorporado no momento de sua remoção

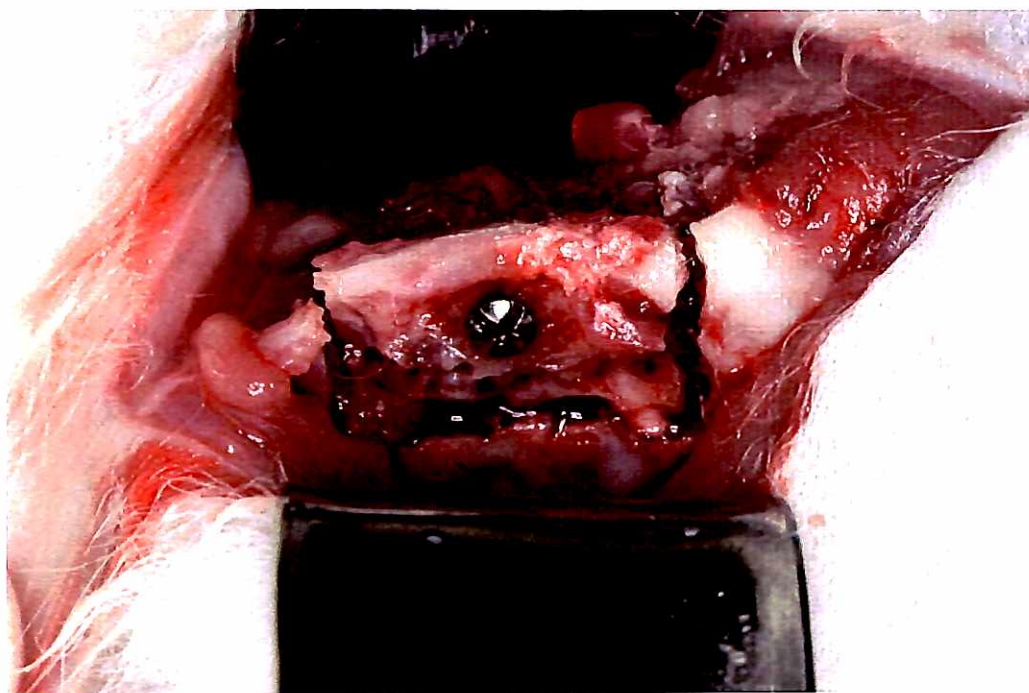


Fig. 7: Imagem em detalhe da osteotomia contendo parte da mandíbula e o enxerto (autógeno) incorporado

4.2.7 Processamento do Material para Análise Histológica

No bloco removido com o enxerto e parte da mandíbula (margem de segurança), os excessos de osso mandibular e o parafuso foram removidos, e todo o conjunto incluído em parafina.

Fixação e Descalcificação:

Cada peça (enxerto e mandíbula subjacente) foi colocada em frasco de vidro contendo o fixador: solução de paraformaldeído 4%, dissolvido em tampão

fosfato de sódio (PBS) 0,1M, pH 7,4 por 12 horas à temperatura ambiente. Em seguida, a solução do fixador foi descartada e a peça lavada em água destilada, por 24 horas, à temperatura ambiente. Após a lavagem, a peça foi mergulhada em solução de ácido fórmico a 90%, durante 48 horas, à temperatura ambiente (Clark, 1954; Kiernan, 2001).

Inclusão e Microtomia:

Após descalcificação, as peças foram lavadas em água destilada, por 24 horas, desidratadas em gradiente de etanol (soluções 70%, 95% e 100%) e diafanizadas em três trocas de xilol (cada troca teve a duração de 30 minutos). Em seguida, foram embebidas e incluídas em parafina à 65^oC. Todos os blocos foram cortados num micrótomo manual no sentido transversal, ou seja, do enxerto para a mandíbula paralelo ao seu comprimento. Desta maneira obtivemos as imagens histológicas mostrando na imagem à esquerda a mandíbula e à direita os enxertos alógenos ou autógenos. Os cortes foram realizados de 10 em 10µm até a profundidade de 800µm que estaria mais próximo da região central do enxerto. A partir de 800µm de profundidade de corte, 15 cortes de 5µm foram realizados.

Os cortes foram montados em lâminas histológicas, desparafinizados em xilol, hidratados em gradiente decrescente de etanol e, em seguida corados com hematoxilina-eosina. Depois de coradas as lâminas foram lavadas em água

destilada, desidratadas em gradiente de etanol, montadas com Entellan e analisados histologicamente.

Os cortes seriados de 5 μm foram obtidos em micrótomo manual (LEICA, RM 2145).

Métodos de Coloração:

As amostras foram coletadas em lâminas histológicas e coradas através do seguinte método de coloração:

Hematoxilina-Eosina (HE)

As lâminas foram coradas pela hematoxilina e eosina para estudo histológico geral por ser esta coloração um método clássico para a identificação de células e tecidos em geral (Michalany J, 1980).

4.2.8 Análise de Estatística

Os dados obtidos tiveram suas médias e erros-padrões calculados. A análise estatística foi realizada através do Teste T de Student para o nível de significância estipulado em 5%, sendo que os valores de $p \leq 0,05$ serão considerados estatisticamente significante.

5. RESULTADOS

5.1. Análise macroscópica e histológica dos enxertos alógenos e autógenos:

As variáveis macroscópicas (comprimento e largura) e microscópicas (atividade celular de formação e reabsorção) foram analisadas.

5.1.1.A. Análise macroscópica dos enxertos após 4 semanas da cirurgia - Grupo I

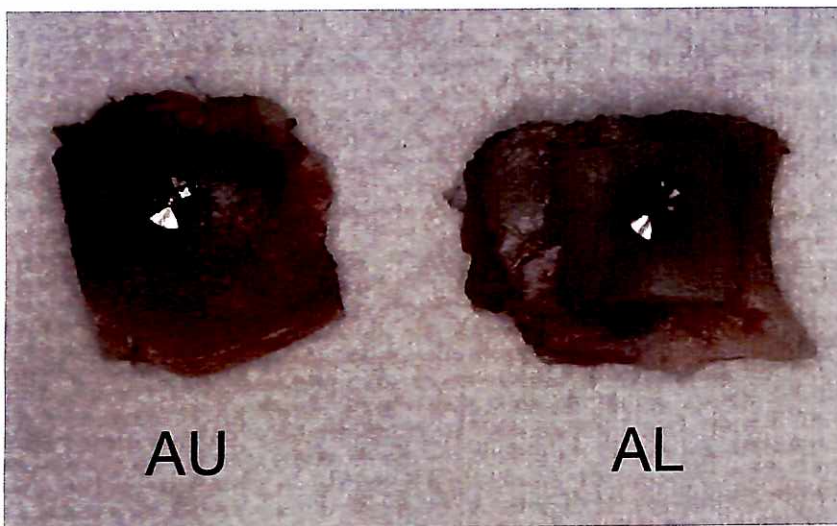


Fig. 8: Fotografia dos enxertos: autógenos (AU) e alógeno (AL) de um animal após 1 mês de cirurgia.

A figura 8 é representativa dos enxertos autógenos (AU) e alógenos (AL) de animais após 4 semanas da cirurgia. A média e desvio padrão das medidas obtidas estão representadas no gráfico 1. A área (comp. x larg.) da reabsorção óssea, foi obtida calculando-se a perda (reabsorção) em porcentagem e está representada na tabela 1 (pag. 61).

5.1.1.B. Análise Histológica

Uma extensa atividade osteoclástica e osteoblástica está presente nos enxertos autógenos e alógenos após 4 semanas da cirurgia. A presença de grandes osteoclastos, indicativo de atividade de reabsorção óssea intensa, é observada ao lado de osteoblastos em intensa atividade de síntese (Figs. 09 e 10) mostrando grande atividade celular de *turnover*. No entanto, já no enxerto alógeno com mesmo tempo de cirurgia, os osteoclastos são menores em tamanho indicando menor atividade de reabsorção óssea. Além disso, a atividade de síntese intensa é observada na formação de centros de ossificação bem estruturados (Figs. 11 e 12).

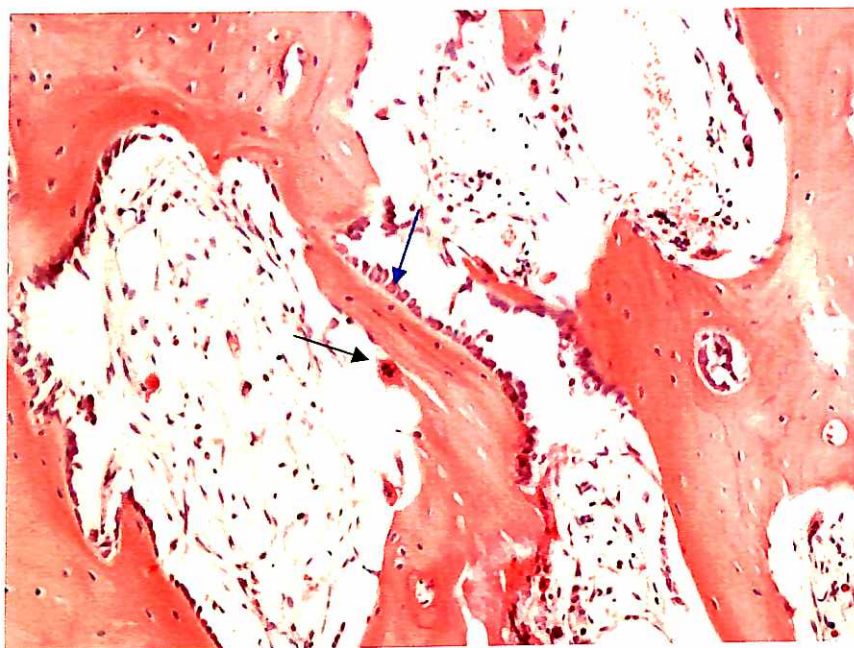


Fig. 9: Fotomicrografia de enxerto autógeno corado pela Hematoxilina-Eosina de animal do Grupo I mostrando atividade osteoclástica (seta preta) e atividade osteoblástica (seta azul). Magnificação original 200X

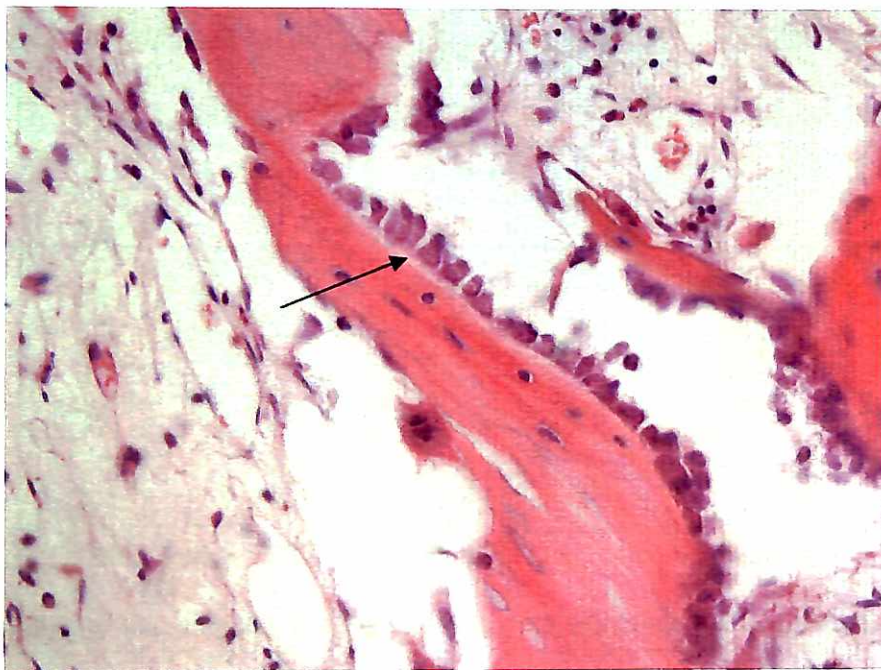


Fig. 10: Fotomicrografia do enxerto mostrando os osteoblastos cubóides com seu volume aumentado (seta) indicando intensa atividade de síntese. Notar também adjacente a estes osteoblastos, uma região corada mais fracamente. Essa região representa a matriz óssea recém-formada, o osteóide. Magnificação original 400X

Nas figuras 11 e 12 do enxerto alógeno podemos notar centros de ossificação bem mais estruturados, num processo mais adiantado de síntese e formação óssea, do que a encontrada nos enxertos autógenos.

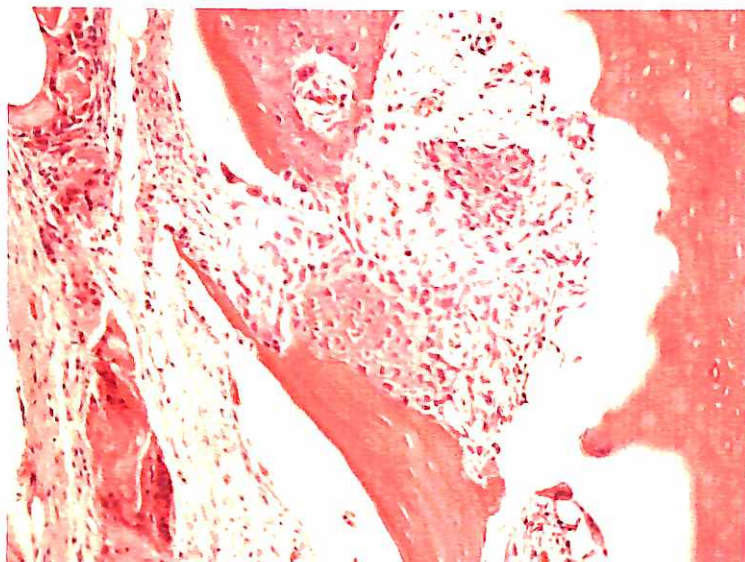


Fig. 11: Imagem histológica em HE de enxerto alógeno de coelho do Grupo I. Magnificação original 200X

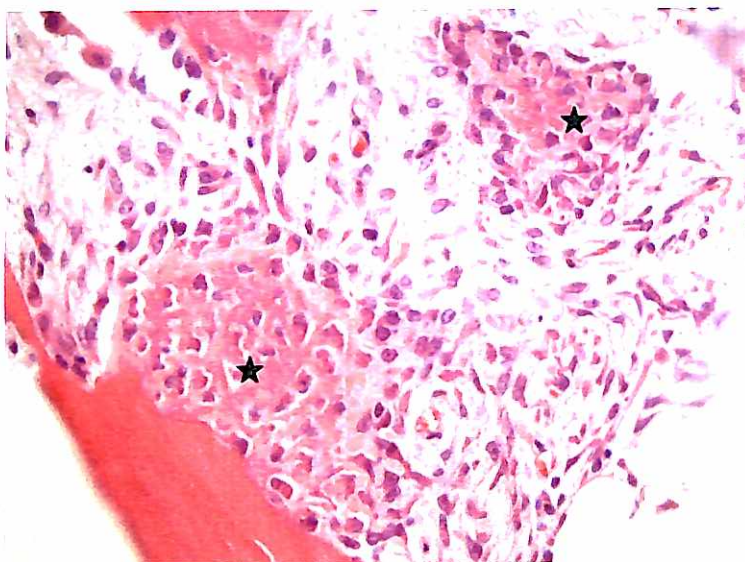


Fig. 12: Imagem histológica, mostrando centros de ossificação em formação (asteriscos). Esses centros representam neoformação óssea. Magnificação original 400X

As figuras 13 e 14 mostram regiões de junção dos respectivos enxertos (autógenos e alógenos) com a mandíbula. Notar no enxerto alógeno, ósteons recém-formados e em sentido perpendicular às fibras colágenas do enxerto. No enxerto autógeno, atividade osteoblástica apoiada nas trabéculas ósseas remanescentes.

A figura 13 evidencia a região da junção entre o enxerto autólogo (à direita) e a mandíbula (à esquerda). Notar a tábua de osso mandibular compacto. À direita, encontra-se o enxerto, contendo trabéculas ósseas com intensa atividade osteoblástica.

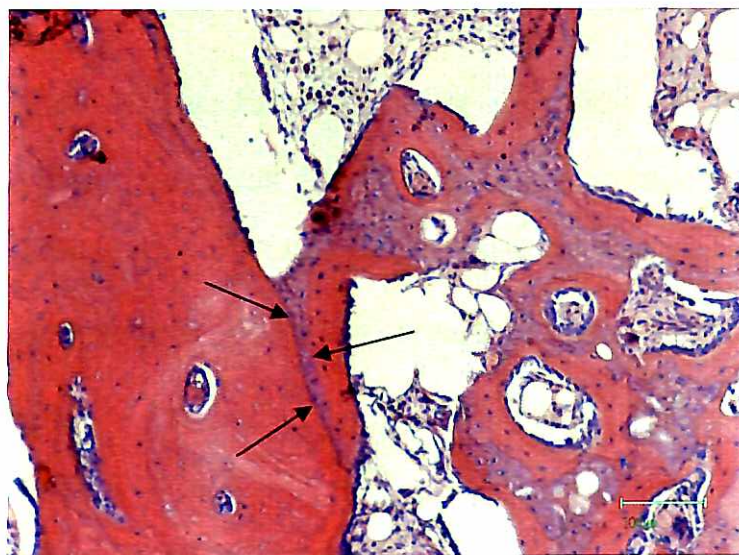


Fig. 13: Fotomicrografia mostrando à direita o enxerto autólogo e à esquerda, a mandíbula de um coelho do Grupo I. As setas indicam a área de junção do enxerto com a mandíbula. Magnificação original 200X

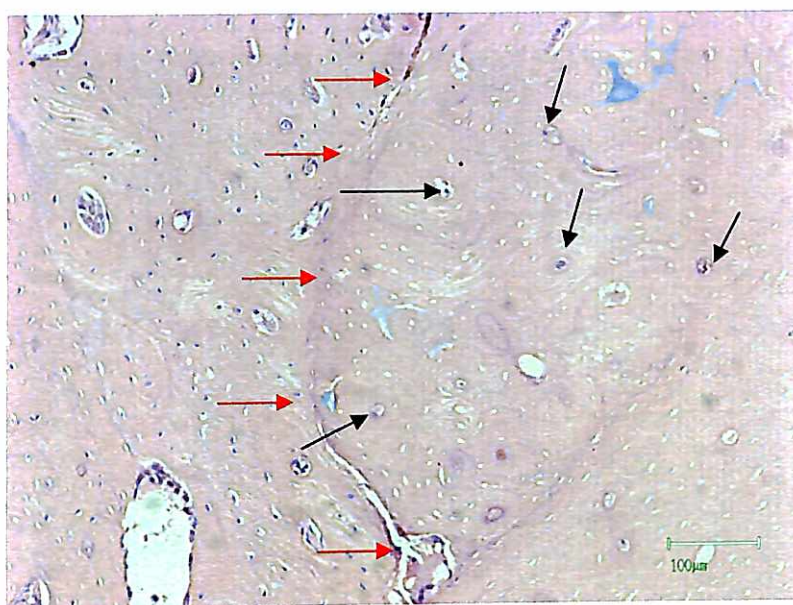


Fig. 14: Fotomicrografia do enxerto alógeno (à direita) na área de junção (setas vermelhas) com a mandíbula (à esquerda) em um coelho do grupo I. Ósteons (setas pretas). Magnificação original 400X

5.1.2.A. Análise macroscópica dos enxertos após 8 semanas da cirurgia - Grupo II

O resultado que podemos observar da média de reabsorção dos enxertos autógenos e alógenos em 8 semanas da cirurgia, foi na média de: 19,28% em comprimento e 12,50% em largura nos enxertos autógenos; e 4,00% em comprimento e 2,86% em largura nos enxertos alógenos, como mostrado na tabela 1.

5.1.2.B. Análise Histológica

No Grupo II (8 semanas), já podemos observar nos enxertos alógenos, uma estruturação dos osteons maior que no osso autógeno (Figs. 15 e 16).

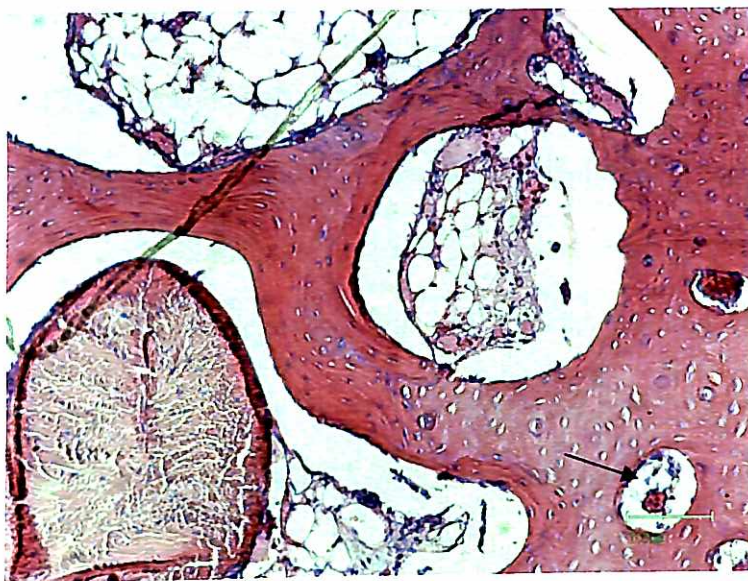


Fig. 15: Fotomicrografia da imagem do enxerto alógeno (à direita) na área de junção com a mandíbula (à esquerda) de um coelho do grupo II. Osteons (setas). Magnificação original 400x

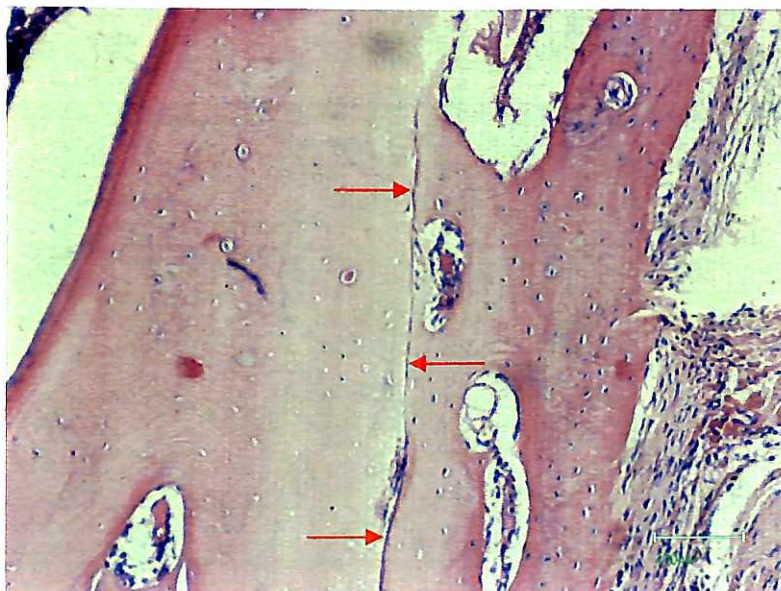


Fig. 16: Fotomicrografia da imagem do enxerto autógeno (à direita), na área de junção (setas vermelhas) com a mandíbula (à esquerda) de um coelho do grupo II. Magnificação original 400x

5.1.3.A. Análise macroscópica dos enxertos após 12 semanas da cirurgia - Grupo III

A figura 17 é representativa dos enxertos autógenos (AU) e alógenos (AL) de animais após 12 semanas da cirurgia. Medidas de comprimento e largura foram obtidas usando a porção mais central de cada um (comprimento e largura). A média e desvio padrão dessas medidas estão representadas no gráfico 1. A área (comp. x larg.) obtida da reabsorção óssea, está representada na tabela 1 em porcentagem.

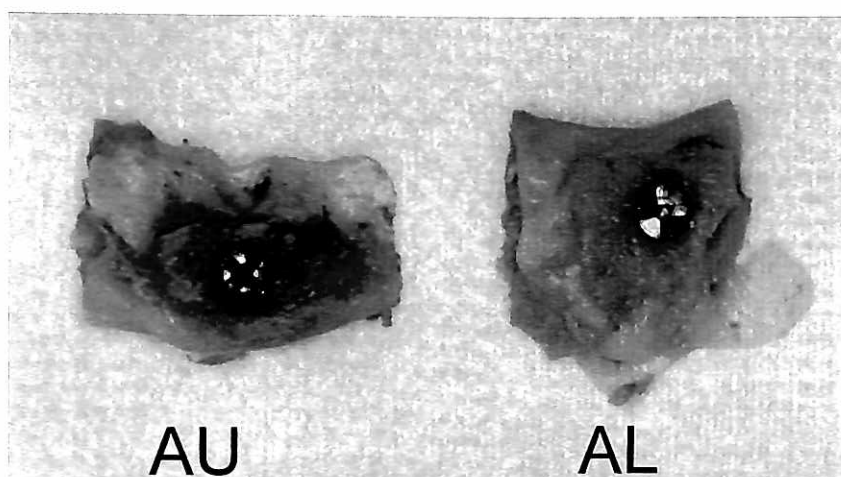


Fig. 17: Fotografia dos enxertos: autógenos (AU) e alógeno (AL) de um animal após 12 semanas da cirurgia – Grupo III.

5.1.3.B. Análise Histológica

Após as 12 semanas, podemos notar extensas áreas com osso neoformado tanto nos enxertos alógenos como nos enxertos autógenos. Várias áreas com osso “necrótico” ainda estão presentes nos enxertos alógenos, enquanto que o enxerto autógeno apresenta-se totalmente povoado por células ósseas viáveis. Nas áreas de junção podemos observar a interação celular, mostrando a integração nos dois tipos de enxerto. Ainda neste período, também observamos um tecido em plena atividade dos osteoclastos e osteoblastos (Figs. 18 e 19).

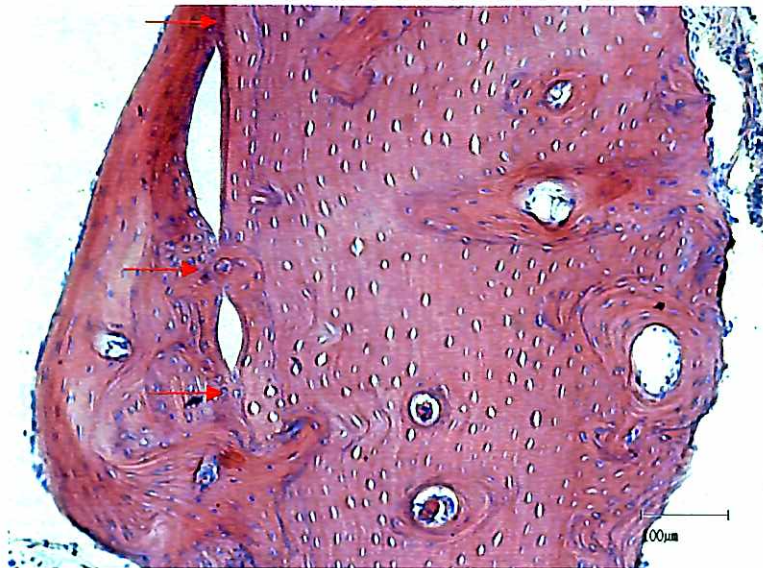


Fig. 18: Fotomicrografia do enxerto alógeno (à direita) na área de junção (setas vermelhas) com a mandíbula (à esquerda) num animal do Grupo III. Magnificação original 400x

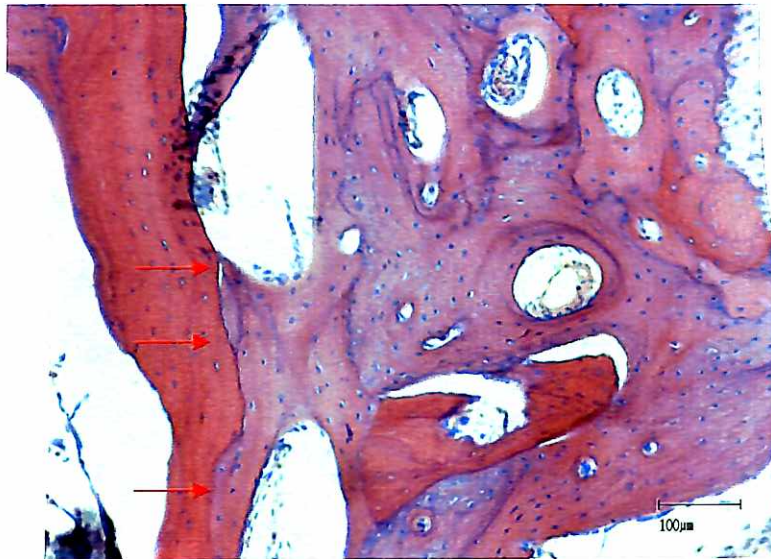


Fig. 19: Fotomicrografia do enxerto autógeno (à direita) na área de junção (setas vermelhas) com a mandíbula (à esquerda) num animal do Grupo III. Magnificação original 400x

A porcentagem de reabsorção da área total, nos dois tipos de enxerto , durante o período de reparação de cada grupo, está representada na tabela 1. A área total de cada bloco ósseo foi obtida multiplicando-se o comprimento pela largura. Foram somados o total de cada grupo para alógeno e autógeno, e realizada a regra de três para obtenção do percentual de reabsorção média para cada grupo.

Alógeno	inicial	final	% reabsorção
Grupo I	270.50	216.50	19.96%
Grupo II	343.75	320.25	6.83%
Grupo III	274.50	233.25	15.02%

Autógeno	inicial	final	% reabsorção
Grupo I	163.00	140.50	13,8%
Grupo II	234.75	163.00	30,56%
Grupo III	207.75	139.50	32,85%

Tabela 1: Esta tabela representa as porcentagens médias de reabsorção nos diferentes grupos dos enxertos

O gráfico 1, mostra a área o desvio padrão de reabsorção ocorrida nos enxertos autógenos (AUTO) e alógenos (ALO) nos três grupos: I (4 semanas); II (8 semanas); III (12 semanas).

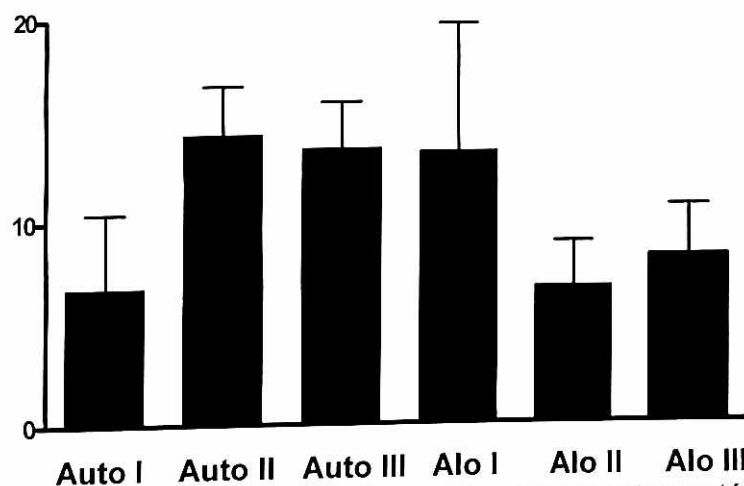


Gráfico 1: Diferença da reabsorção e desvio padrão dos enxertos autógenos (AUTO) e alógenos (ALO) nos três grupos; 4, 8 e 12 semanas

6. DISCUSSÃO

Tornou-se uma busca constante na área médica, a tentativa de se desenvolver um material para enxertia óssea em substituição ao enxerto autógeno. A maior morbidade pós-operatória verificada nos enxertos autógenos, que requerem uma segunda área cirúrgica, a limitação da quantidade de tecido ósseo autógeno disponível observada em algumas regiões doadoras, tudo isto estimula ainda mais a busca por novos materiais (BATISTA et al., 1997; MELLONIG, BOWERS, COTTON, 1981).

Dentre os vários tipos de materiais para enxertias ósseas, os enxertos alógenos, sejam eles frescos congelados, liofilizados desmineralizados ou não, representam uma boa alternativa terapêutica. Porém são poucos os trabalhos encontrados na literatura que mostram bons resultados destes enxertos a nível celular.

Neste estudo experimental, foram avaliados o comportamento histológico das áreas de fusão do enxerto com o leito receptor, a porcentagem de reabsorção dos blocos autógenos comparando-os com os alógenos e a atividade osteoclástica e osteoblástica em cada grupo de animais estudados.

Pelos resultados deste estudo, concordamos com Perrot, Smith e Kaban, 1992 e Torrezan et al., 2003 que as principais vantagens da utilização dos enxertos ósseos alógenos comparando com os enxertos autógenos são a eliminação da área doadora e morbidade associada, diminuição do tempo operatório, tornando o procedimento cirúrgico mais frequentemente realizável com anestesia local.

De acordo com Marx e Garg, 1998, o osso passa por um processo de “*turnover*”, ou seja, está em constante formação e reabsorção. Observamos que nas primeiras 4 semanas (grupo I), os dois enxertos, alógeno e autógeno, estavam em intensa atividade celular. Os osteoclastos criando espaços (Lacunas de Howship), para que novo tecido se formasse dentro do enxerto alógeno e os ósteons formados nos enxertos autógenos permitindo que os osteoblastos formassem novos centros de ossificação.

Marx e Garg, 1998 afirmam que o processo de remodelação ocorre por inteiro em aproximadamente 142 dias, cerca de 19 semanas em humanos. De acordo com Roberts et al., 1987, o coelho tem o metabolismo 3 vezes mais rápido que no homem, portanto, este processo aconteceria nos coelhos num período de aproximadamente 6 semanas. Somente no grupo III (12 semanas) pudemos observar a total formação de tecido ósseo, ainda imaturo, o que não aconteceu nos grupos I (4 semanas) e Grupo II (8 semanas).

Os dois tipos de enxertos utilizados neste estudo, autógeno fresco e alógeno fresco e congelado, reagiram de maneiras diferentes quanto ao processo histológico de remodelação (formação e reabsorção). Nos enxertos autógenos, o processo de reabsorção foi mais intenso logo no início das reparações. Isso possivelmente pela presença de células que já tinham uma atividade celular da área doadora (estavam submetidas a forças mecânicas diferentes do que as encontradas na área receptora), culminando num processo de “*turn over*” diferente. Já nos enxertos alógenos, principalmente no grupo I (4 semanas), observa-se maior ação osteoblástica para formação de um tecido ósseo imaturo já de início. Com 15 dias, provavelmente,

teríamos observado a atividade osteoclástica; os osteoclastos formando as lacunas de Howship que observamos nos histológicos. Depois desse processo, os osteoclastos agem para que este osso imaturo seja reabsorvido e um novo osso seja sintetizado pelos osteoblastos, porém com fibras colágenas dispostas mais densa e uniformemente gerando o osso maduro. Nestes enxertos alógenos, podemos perceber no grupo III (12 semanas), que ainda encontramos áreas de osso acelular, o que pode ser justificada pela diferença do padrão de remodelação óssea dos enxertos congelados (PURANEN, 1966; BURCHARDT e ENEKING, 1978).

Os enxertos autógenos tiveram uma reorganização mais rápida e o novo osso formado no leito receptor ocorreu em maior quantidade, creditando ao fato que as células osteogênicas e alguns osteócitos sobrevivam ao enxerto fresco após o transplante (PURANEN, 1966). Thóren, Aspenberg e Thorngren (1995), demonstraram a invasão de vasos e células no interior dos enxertos facilitando o processo de formação e reabsorção dos tecidos. Os grupos I e II dos enxertos alógenos, apresentaram vasos e células no seu interior como mostram as figuras 15 e 18.

Segundo Burchardt e Eneking, 1978, a osteogênese ocorre mais precocemente nos enxertos autógenos quando comparados com os enxertos alógenos. Isto foi confirmado neste estudo quando observamos o histológico dos coelhos do grupo I (4 semanas). Por conta da deficiência vascular nos alógenos, a osteogênese inicia-se após a quarta semana pelo leito receptor, já nos enxertos autógenos este processo ocorre após uma semana. Urist, 1976, relata que o processo de incorporação tem início durante a primeira semana após a cirurgia.

Novos estudos são necessários para se avaliar histologicamente o comportamento dos enxerto alógenos a longo prazo.

Os enxertos autógenos representam o “padrão ouro” para reconstruções de áreas atróficas e podem ser obtidos de várias regiões anatômicas distintas, tanto intra-orais como extra-orais (KHOURY, 1999; SENDYK et al., 2004; COLLINS et al. 1995; BRÅNEMARK et al. 1975; BUSER et al., 1996; BLOCK et al., 1996; JENSEN e SHULMAN, 1998; QUERIDO e LI, 2004). Acreditamos que os enxertos autógenos representam o “padrão ouro” do ponto de vista histológico. Do ponto de vista clínico, o enxerto autógeno teve maior reabsorção durante o período de reparação nos três grupos, comparado com os enxertos alógenos congelados.

Existem evidências suportando uma teoria envolvendo duas fases da osteogênese. De acordo com essa teoria, durante as primeiras semanas após a implantação de um enxerto ósseo autógeno, a principal contribuição para a osteogênese provém das células do próprio enxerto. Após quatro ou cinco semanas, células derivadas do próprio osso contribuem significativamente para a formação de osso novo, sendo 60% células provenientes do endóstio e 30% do perióstio (GRAY e ELVES, 1982).

Nos ossos corticais, ocorre uma reabsorção para abertura de porosidades (lacunas de Howship) que irão permitir a invasão de vasos e células. O processo de formação óssea ocorre de forma mais lenta que nos enxertos medulares. A resistência do enxerto esponjoso e cortical pode ser correlacionada com seu respectivo processo de regeneração: enxerto esponjoso tende a ser primeiramente fortalecido, enquanto que o cortical é enfraquecido. Com o tempo os dois tipos de enxerto retornam à resistência

mecânica normal (CORNELL e LANE, 1998; BURCHARDT e ENNEKING, 1978; GOLDBERG e STEVENSON, 1987).

Os blocos alógenos frescos congelados, apresentaram boa resistência mecânica no momento da instalação do parafuso de fixação. Reafirmado por Acceturi et al., em 2000, que observaram um novo osso formado suportando torques de 45N (Newtons) mostrando boa resistência e permitindo a formação de um osso organizado num período de 4 a 6 meses sendo ideal para colocação de implantes; e Perrot, Smith e Kabam, 1992, que relataram ser uma vantagem do osso fresco congelado ter a possibilidade do uso de blocos córtico-esponjosos.

De acordo com Perrot, Smith e Kabam, 1992 e Malloy e Hillibrand, 2002, nos enxertos congelados, as proteínas osseindutoras não são destruídas, o que pode resultar numa melhor formação óssea e na diminuição da reabsorção em longo prazo.

Concordamos com Acceturi et al., 2000, que relatam ser o osso alógeno congelado um bom material para reconstruções ósseas que permite a formação de um novo osso organizado num período de 4 e 6 meses tendo boa resistência e baixa contração.

Todos os enxertos foram instalados sobre um leito ósseo previamente perfurado para permitir a nutrição por vasos sanguíneos. De acordo com o trabalho de Delloye et al., 2002, existem três vezes mais formação de novo osso quando se antecede à fixação do enxerto com perfurações no leito receptor.

Smolka et al., 2006, observaram através de tomografias computadorizadas que ocorreu uma redução no volume, de enxertos

autógenos corticais obtidos da calota craniana, na ordem de 16,2% após seis meses e de 19,2% após um ano. Morfometricamente, tivemos nos enxertos autógenos após 12 semanas, reabsorção óssea de 32,85% de sua área total, enquanto nos enxertos alógenos, após o mesmo período, reabsorção óssea de 15,02% como mostra a tabela 1.

7. CONCLUSÕES

- Os enxertos alógenos clinicamente apresentaram menor reabsorção óssea durante o período de reparação comparando com o autógeno.
- Somente os enxertos autógenos foram povoados completamente por células ósseas viáveis no terceiro mês.
- A atividade celular nos enxertos autógenos é mais intensa desde o início, o que permitiu que novo osso se formasse mais precocemente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AATB. General standards of tissue banking, technical manual for muscle-skeletal tissue banking. 1992

Accetturi, E.; Ermani, K. B.; Goldoni, P. R.; Esteves, S. R. R.; Accetturi, F.; Cavalca, D. Reconstrução de defeitos ósseos na maxila e mandíbula com osso humano fresco congelado. **Rev. Ciências. Odontol.**, Marília, v. 3. n. 3, p. 27-30, 2000.

Block, M.S.; Chang, A.; Crawford, C. Mandibular alveolar ridge augmentation in the dog using distraction osteogenesis. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 54, n. 3, p. 309-14, Mar. 1996.

Branemark, P.I. et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, Stokholms, v.3, n.2, p. 81-100, 1969.

Branemark, P.I.; et al. A. Reconstruction of the defective mandible. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, Stokholms, v. 9, n. 2, p. 116-28, 1975.

Brazaitis, M.P.; Mirvis, S.E.; Greenberg, J.; Ord, R.A. Severe retroperitoneal hemorrhage complicating anterior iliac bone graft acquisition. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 52, p. 314- 6, 1994.

Breine, U.; Branemark, P.I. Reconstruction of alveolar jaw bone. An experimental and clinical study of immediate and preformed autologous bone grafts in combination with osseointegrated implants. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, *Stolckholms*, v. 14, n. 1, p. 23-48, 1980.

Buck, B.E.; Malini, T.I.; Brown, M.D. Bone transplantation and human immunodeficiency virus. An estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 240, p. 129-36, Mar. 1989.

Burchardt, H.; Enneking, W.F. Transplantation of bone. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 58, n.2, p.403-27, Apr. 1978.

Burwell, R.G. The scientific basis of bone homotransplantations. **Sci. Basis Med. Annu. Rev.**, London, p. 147-67, 1968.

Buser, D.; Dahlin, C.; Schenk, R.K. **Regeneração Óssea guiada em Implantodontia**. Chicago: Quintessence, 1996. 269 p.

Campbell, D.G.; Li, P. Sterilization of HIV with irradiation: relevance to infected bone allografts. **Aust. N. Z. J. Surg.**, v. 69, n. 7, p. 517-21, July. 1999.

Clark PG. A comparison of decalcifying methods. **Am J Clin Pathol** 1954, 24: 1113-6.

Collins, T.A. et al. Team management of atrophic edentulism with autogenous inlay, veneer and split grafts and endosseous implant: case reports **Quintessence Int.**, Berlim, v.26, n.2, p.79-93. Feb. 1995

Cornell, C.N.; Lane, J.M. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, n. 355, p. S267-73, Oct. 1998.

Czitron A.A.; et al. Bone banks and allografts in community practice. **Instr. Course Lect.**, St. Louis, v. 37, p. 13-24, 1988.

Delloye, C.; et al. Perforations of cortical bone allografts improve their incorporation. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 396, p. 240-7, Mar. 2002.

Dziedzic-Goclawska, A et al. Effect of radiation sterilization on the osteoinductive properties and the rate of remodeling of bone implants preserved by lyophilization and deep-freezing. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 272, p. 30-7, Nov. 1991.

Fowler, J., Cohen, L. Practical statistics for field biology. Open **University Press**, Buckingham, Inglaterra. 1990.

Friedlaender, G.E. Bone banking. In support of reconstructive surgery of the hip. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 225, p. 17-21, Dec. 1987.

Galea, G.; Kearney, J.N. Clinical effectiveness of processed and unprocessed bone. **Transfusion Medicine**. N.15, p. 165-174. 2005.

Garg, A.K. Grafting materials in repair and restoration. In: Lynch, S.E.; Genco, R.J.; Marx, R.E. (Eds.). **Tissue Engineering**: applications in maxillofacial surgery and periodontics. Chicago: Quintessence, 1999. Cap. 5, p. 83-101.

Goldberg, V.M. et al. Bone grafting: role of histocompatibility in transplantation. **J. Orthop. Res.**, New York, v. 3, n. 4, p. 389-404, 1985

Goldberg, V.M.; Stevenson, S. Natural history of autografts and allografts. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 225, p. 7-16, Dec. 1987.

Gray, J.C.; Elves, M.W. Donor cells' contribution to osteogenesis in experimental cancellous bone grafts **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 163, p. 261-71, Mar.1982.

Hamer, A.J.; Stockley, I.; Elson, R.A. Changes in allograft bone irradiated at different temperatures. **J. Bone Joint Surg. Br.** London, v. 81, n. 2, p. 342-4, Mar. 1999.

Hardin, C.K. Banked bone. **Otolaryngol. Clin. North. Am.**, Philadelphia. v. 27. n. 5 . p. 911-25, Oct. 1994.

Inclan, A. The use of preserved graft in orthopedic surgery. **J. Bone Surg.**, v. 24, p. 81- 96, 1942.

Itoman, M.; Nakamura, S. Experimental study on allogenic bone grafts. **Int.Orthop.**, Berlim, v. 15, n. 2, p. 161- 5, 1991.

Jacotti, M. Simplified onlay grafting with a 3-dimensional block technique: a technical note. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 21, n. 4, p. 635-9, Jul-Aug. 2006.

Junqueira, L.C; Carneiro, J. Tecido ósseo. In: *Histologia Básica*. 9ª. Ed. P.111-128 Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

Kagan 1998, apud Boyce, T.; Edwards, J.; Scarborough, N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 30, n. 4, p. 571-81, Oct. 1999.

Keith, J.D. Jr.; et al. Clinical and histologic evaluation of a mineralized block allograft: results from the development periodr (2001-2004). **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 26, n. 4, p. 321-7, Aug. 2006.

Khoury, F. Augmentation of the sinus floor with mandibular bone block and simultaneous implantation: a 6-year clinical investigation. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 14, n. 4, p. 557-64. 1999.

Kiernan JA. Histological and histochemical methods. **Theory and practice**. Arnold Editor. 3rd edition, 2001.

Laitinen, M.; Kivikari, R.; Hirn, M. Lipid oxidation may reduce the quality of a fresh-frozen bone allograft. Is the approved storage temperature too high? **Acta Orthop.**, v. 77, n. 3, p. 418-421, Jun. 2006.

Lane, S.W.; Guggenheim, B.; Egyedi, P. Comparison of homogenous freeze dried and fresh and fresh autogenous bone grafts in the monkey mandible. **J. Oral Surg.**, Chicago, v. 30, n. 9, p. 649-55, Sept. 1972.

Leonetti, J.A.; Koup, R. Localized maxillary ridge augmentation with a block allograft for dental implant placement: case reports. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 12, n. 3, p. 217-26, 2003.

Limberte, R. **Avaliação de enxerto autógeno de banco de ossos após mistura com tetraciclina em calvária de coelhos com análise histológica.** 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Implantodontia) – Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2006.

Macedo, L.G.S. **Avaliação do grau de formação e reabsorção do osso alógeno fresco congelado em procedimento de aumento vertical de rebordo.** 2006 104f. Dissertação (Mestrado em Implantodontia) – Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2006.

Malloy, K.M.; Hilibrand, A.S. Autograft versus allograft in degenerative cervical disease. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 394, p. 27-38, Jan. 2002.

Mankin, H.J.; Hornicek, J.; Raskin, K. A. Infection in massive bone allografts. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 432, p. 210-6, Mar. 2005.

Marques, A.; Freire, L.J.B.; Marziona F., Filho, O.G.; Moreira, F.A.; Abrão, F.S.; Gentil, F.C.; Magrin, J.; Erlich, D. H. **Homologous bone preserved in glycerin: experimental study in guinea pigs.** *Rev. Paul. Med.*, v. 95, n. 1-2, p. 14- 9, Jan- Feb. 1980.

Marx, R.E. Biology of bone grafts. *Am. Assoc. Oral and Maxillofac. Surg.*, v. 1, p. 3- 17, 1994.

Marx, R.E.; Garg, A.K. Bone structure, metabolism, and physiology; its impact on dental implantology. *Implant Dent.*, Baltimore, v. 7, n. 4, p. 267-76, 1998.

Michalany, G. *Técnica Histológica em Anatomia Patológica.* Ed. Pedagógica e Universitária, 1980.

Michaud, R.J.; Drabu, K.J. Bone allograft banking in the United Kingdom. *J. Bone Joint. Surg. Br.*, v. 76, n. 3, p. 350- 1, May. 1994.

Ozaki, W.; Buchman, S.R. Volume maintenance of onlay bone grafts in the craniofacial skeleton: micro-architecture versus embryologic origin. *Plast Reconstr.Surg.*, Baltimore, v. 102, n. 2, p. 291-9, Aug. 1998.

Pallesen, L. et al. Influence of particle size of autogenous bone grafts on the early stages of bone regeneration: a histologic and stereologic study in rabbit calvarium. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, Lombard, v. 17, n. 4, p. 498-506, July-Aug. 2002.

Parrish, F.F. Allograft replacement of all or part of the end of a long bone following excision of a tumor. **J. Bone Joint Surg Am.**, v. 55, n. 1, p. 1- 22, Jan.1973.

Pelker, R.R. et al. Effects of freezing and freeze-drying on the biomechanical properties of rat bone. **J. Orthop. Res.**, Hoboken, v. 1, n. 4, p. 405-11, 1984.

Perrott, D.H.; Smith, R.A; Kaban, L.B. The use of use of fresh frozen allogeneic bone for maxillary and mandibular reconstruction. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Lombard, v. 21, n. 5, p. 260-5, Oct. 1992.

Petrungaro, P.S.; Amar, S. Localized ridge augmentation with allogenic block grafts prior to implant placement: case reports and histologic evaluations. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 14, n. 2, p. 139-48, june 2005.

Querido M.R.M., Gomes, Y.L.F. Implantes Osseointegrados: inovando soluções – **Artes Médicas 2004**

Rajan, G.P. et al. Cancellous allograft versus autologous bone grafting for repair of comminuted distal radius fractures: a prospective, randomized trial. **J. Trauma**, Baltimore, v. 60, n. 6, p. 1322-9, June. 2006.

Rhinelander, F.W. **Circulation in Bone: the biochemistry and physiology of bone.** 2 ed. 1972. V.2, p.1-77.

Roberts, W.E. et al. Implants: Bone physiology and metabolism. **CDA J.**, Los Angeles, v.15, n. 10, p. 54-61, Oct. 1987.

Rocha, L.R.S.; Assis Rocha, F.; Moraes, J.R. Homoenxerto ósseo congelado: relatos de casos clínicos. **Implant News.**, v. 3, n. 6, p.579- 84, Nov- Dez. 2006.

Sendyk, W.R.; Sendyk, C.L.; Jahn, R.S. Enxertos ósseos para reconstrução da maxila posterior atrofica. In: QUERIDO, M. R. M.; GOMES, Y. L. F.; editores. **Implantes Osseointegrados: inovando soluções.** São Paulo: Artes Médicas, p. 115-37. 2004.

Shand, J.M. et al. Allogeneic bone grafting of calvarial defects: an experimental study in the rabbit. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 31, n. 5, p. 525-31, Oct. 2002.

Smolka, W. et al. Changes in the volume and density of calvarial split bone grafts after alveolar ridge augmentation. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 17, n. 2, p. 149-55, Apr 2006.

Stevenson, S.; Einhorn, T.; Lane, J. Enhancement of fracture healing with autogenous and allogeneic bone grafts. V. 355, October, p. 239- 246. 1998. Supplement.

Summers, R.B. A new concept in maxillary implant surgery: the osteotomy technique. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v.15, n.2, p.152-162, 1994.

Tencate, R. **Histologia bucal. Desenvolvimento, estrutura e função.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap. 7, p. 101-122.

Thoren, K.; Aspenberg, P.; Thorngren, K.G. Lipid extracted bank bone. Bone conductive and mechanical properties. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n. 311, p. 232-46, Feb. 1995.

Tomford, W.W. Bone allografts: past, present and future. **Cell Tissue Bank**, Dordrecht, v. 1, n. 2, p. 105-9, 2000.

Tomford, W.W. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 77, n. 11, p. 1742-54, Nov. 1995.

Tomford, W.W.; Mankin, H.J. Bone banking. Update on methods and materials. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 30, n. 4, p. 565-70, Oct. 1999.

Tomford, W.W.; Doppelt, S.H.; Mankin, H.J.; Friedlander, G.E. Bone bank procedures. **Clin. Orthop.**, v. 174, p. 15- 21, 1983.

Torrezan P.R.; Grein R.L.; Rocha A.L.R.; Silva M.M. Utilização de Homoenxerto Congelado para Reconstrução em Áreas Atróficas Pré-Implante: um relato de caso clínico. **Revista Brasileira de Implantodontia e Prótese sobre Implantes.** Curitiba, v. 10, n. 39, p. 201-7, jul-set, 2003.

Urist, M.R. Bone: formation by autoinduction. **Science**, Washington, v. 150, n. 698, p. 893-9, Nov. 1965.

Urist, M.R. **Practical applications of basic research on bone graft physiology**. St. Louis: Mosby, 1976.

Vaccaro, A.R.; Cirello, J. The use of allograft bone and cages in fractures of the cervical, thoracic, and lumbar spine. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, n.394, p. 19-26, Jan. 2002.

Virolainen, P.; Vuorio, E.; Aro, H.T. Different healing rates of bone autografts, syngeneic grafts, and allografts in an experimental rat model. **Arch Arthrop. Trauma Surg.** v. 116, n. 8, p. 486- 91, 1997.

Whitson, S.W. Osso. In: Tencate, R. **Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap. 7, p. 101-122.

Wilson, J.W.; Rhinelander, F.W.; Stewart, C.L. Vascularization of cancellous chip bone grafts. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 46, n. 8, p. 1691-9, Aug. 1985.